

Marcadores informativos de ancestralidade nas Filipinas: distribuição de AIM-INDELs e estudo de estrutura populacional

Vitória Edna Fernandes Rodrigues

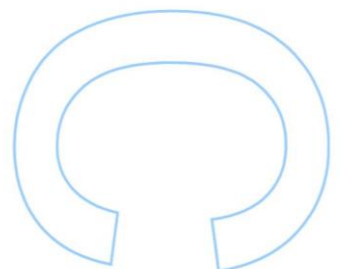
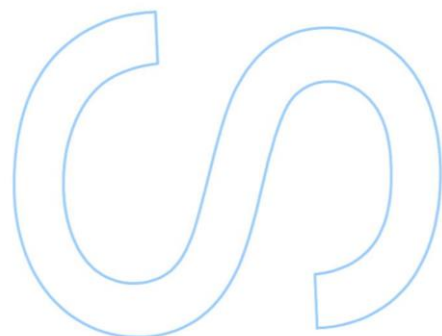
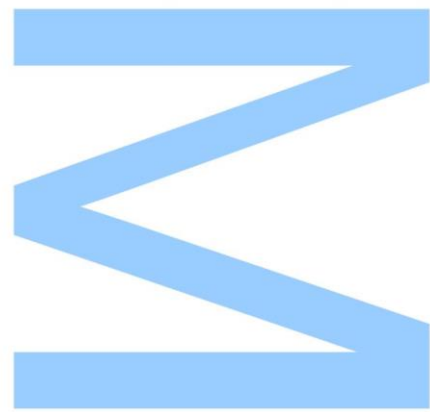
Mestrado em Genética Forense
Departamento de Biologia
2015

Orientador

Doutor Rui Pereira, (IPATIMUP/i3S)

Co-orientador

Professor Doutor Antonio González Martín (Facultad de Ciencias
Biológicas, Universidad Complutense de Madrid)

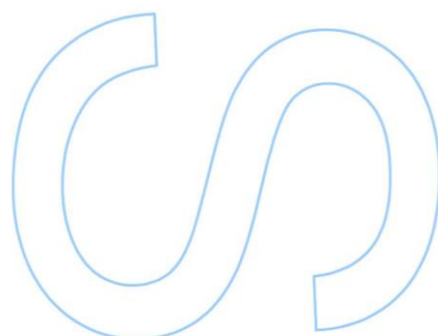
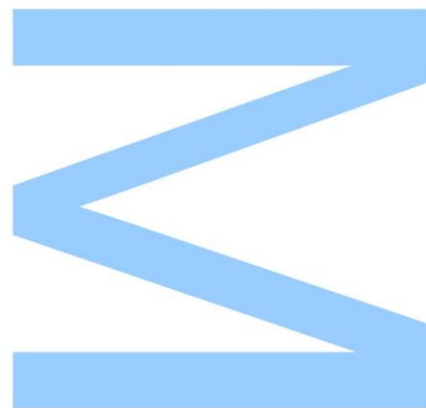




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

Esta Dissertação, além de ser resultado de muito empenho individual, é fruto do contributo de muitas pessoas que muito me honra destacar.

Ao IPATIMUP, em especial ao Diretor de Mestrado em Genética Forense, Professor Doutor António Amorim, por me ter proporcionado todas as condições para a elaboração da minha tese e permitir a minha integração no Grupo de Investigação de Genética Populacional de tão elevado prestígio. Agradeço-lhe, também, a oportunidade desta aprendizagem e a sua disponibilidade.

Ao Doutor Rui Pereira, expresso o meu profundo agradecimento pela forma como me orientou, todo o auxílio e apoio que foram determinantes para a elaboração desta Dissertação. É importante, também, referir a transmissão de conhecimentos, sugestões e comentários que permitiram uma revisão crítica. Desta forma, manifesto a minha gratidão pelo seu entusiasmo, motivação e boa disposição.

Ao Professor Doutor Antonio González Martín, o meu agradecimento pela co-orientação nesta Tese, esperando que seja um pequeno contributo para o seu grande Projeto. Agradeço a sua confiança neste trabalho e o seu conhecimento partilhado.

O trabalho desenvolvido durante o estágio na Polícia Judiciária, com o contributo relevante do Especialista Superior Dr. Luís Viriato, que permitiu o desenvolvimento de actividades experimentais que foram essenciais para a minha formação científica.

Aos meus amigos, em especial ao José Teles pela amizade, amor, paciência e encorajamento.

À minha família, à Chica e ao Cocas pelo apoio incondicional, acreditando sempre no meu esforço e empenho.

Por fim, a todas as pessoas que, ao longo do meu Mestrado em Genética Forense me ajudaram, direta ou indiretamente, a cumprir os meus objetivos e a realizar mais esta etapa da minha formação académica.

Resumo

As Filipinas são caracterizadas pela sua diversidade cultural, linguística e étnica constituindo, atualmente, mais de 170 grupos etnolinguísticos. O conjunto de ilhas que formam o arquipélago encontra-se agrupado através de critérios políticos, culturais e geográficos nas regiões de Luzon, Visayas e Mindanao. Sendo um arquipélago interessante do ponto de vista antropológico, geográfico e demográfico, despertou interesse à comunidade científica para caracterizar a sua diversidade genética e estrutura das populações.

Este estudo teve como principal objetivo a caracterização genética de marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) na população das Filipinas. A estrutura populacional, assim como a eficiência dos marcadores em aplicações forenses também foi avaliada. Através de um sistema multiplex comportando 46 AIM-INDELs foram genotipadas 381 amostras naturais das três principais regiões das Filipinas. Todos os perfis genéticos obtidos foram distintos e todos os marcadores com exceção de um revelaram ser polimórficos. A análise de estrutura populacional realizada por comparação entre as três regiões indicou a não existência de verdadeira subestrutura populacional nas Filipinas, permitindo a construção de uma base de dados única para os 46 marcadores.

A este estudo foram também adicionados dados de 949 amostras pertencentes ao painel de diversidade HGDP-CEPH incluindo indivíduos representativos dos principais grupos populacionais humanos, para avaliar a eficiência do sistema de AIM-INDELs na inferência de origem biogeográfica das amostras e contextualizar geneticamente a população Filipina a nível global. Um corpo alargado de análises demonstrou que as Filipinas possuem uma componente ancestral essencialmente Asiática, evidenciando uma estreita proximidade genética com as populações HGDP-CEPH desta região do globo.

Uma subsequente análise intracontinental revelou uma ligeira heterogeneidade entre algumas populações do Este da Ásia a nível de distâncias genéticas, mas não o suficiente para evidenciar uma subestruturação em agrupamentos distintos, pelo que o conjunto populacional em análise se pode considerar bastante homogêneo para este conjunto de marcadores autossómicos.

Em conclusão, os resultados indicam que este sistema multiplex de 46 AIM-INDELs é altamente eficiente a inferir a ancestralidade biogeográfica dos indivíduos, tornando-o uma poderosa ferramenta em estudos populacionais, bem como em aplicações forenses específicas. O elevado poder de discriminação acumulado

calculado na população Filipina comprova também a utilidade do sistema em investigações forenses ao nível da identificação humana.

Palavras-chave: Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs); Filipinas; Subestrutura populacional.

Abstract

The Philippines are characterized by their cultural, linguistic and ethnic diversity constituting currently over 170 ethno-linguistic groups. The group of islands that form the archipelago is grouped by political, cultural and geographical criteria in the regions of Luzon, Visayas and Mindanao. Being an interesting archipelago of the anthropological, geographical and demographic points of view, it became interesting to the scientific community to characterize its genetic diversity and population structure.

This study aimed to the genetic characterization of ancestry informative markers (AIMs) in the population of the Philippines. The population structure as well as the efficiency of the studied markers in forensic applications was also evaluated. Through a multiplex system comprising 46 AIM-INDELs, 381 samples natural of the three main regions of the Philippines were genotyped. All genetic profiles obtained were distinct and all markers except one revealed to be polymorphic. The population structure analyses performed by comparison between the three regions indicated the inexistence of substructured groups, thus allowing the establishment of a single genetic database for the 46 INDEL markers.

Genetic data from 949 samples were also used in this study belonging to the HGDP-CEPH diversity panel, which includes individuals representing the main human population groups, in order to evaluate the efficiency of INDEL system in inferring the different biogeographical origin of the samples and to genetically contextualize the Philippines at a global scale. A broad body of evidence has shown that the Philippines have an essentially East Asian ancestral component and a close genetic similarity to this continental region.

A subsequent intracontinental analysis revealed little heterogeneity between populations of East Asia as depicted by genetic distances, but not sufficient as to infer different clusters in deep substructure analysis, so that the East Asian region can be considered rather similar for this set of autosomal markers.

In conclusion, the results indicate that this multiplex system of 46 AIM-INDELs is highly efficient to infer the biogeographical ancestry of individuals, thus proving a powerful tool in population genetics, as well as in specific forensic scenarios. The high levels of accumulated power of discrimination assessed in the Philippines highlight the usefulness of the INDEL system also in forensic identification studies.

Keywords: Ancestry Informative Markers (AIMs); Philippines; Population substructure.

Índice

Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstract	IV
Índice de Tabelas	VII
Índice de Figuras	IX
Abreviaturas	XI
1. Introdução	1
1.1. Filipinas.....	1
1.1.1. Breve história das Filipinas e do seu povoamento.....	2
1.1.2. Contributo de estudos genético-populacionais	7
1.2. Polimorfismos de DNA	10
1.2.1. Microssatélites ou <i>Short Tandem Repeats</i> (STRs)	10
1.2.2. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)	11
1.2.3. Polimorfismos de Inserção-Deleção (INDELs).....	12
1.3. Inferência de ancestralidade biogeográfica	15
1.3.1. Marcadores informativos de ancestralidade (AIMs)	15
1.3.2. Aplicações forenses	16
1.4. Objetivos.....	17
2. Materiais e Métodos	18
2.1. Amostragem.....	18
2.2. Tipagem dos marcadores INDELs	19
2.2.1. Amplificação por PCR multiplex	19
2.2.2. Genotipagem.....	21
2.3. Análise de dados.....	23
3. Resultados e Discussão	25
3.1. Diversidade genética e subestrutura populacional nas Filipinas.....	25
3.1.1. Comparação entre regiões	25
3.1.1.1. Análise de distâncias genéticas.....	25
3.1.1.2. Teste exato de diferenciação.....	26
3.1.1.3. Análise em <i>clusters</i>	26
3.1.2. Frequências alélicas e medidas de diversidade	28
3.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg	31
3.3. Desequilíbrio de Ligação.....	32
3.4. Comparação com outras populações mundiais (painel HGDP-CEPH)	34

3.4.1. Análise de distâncias genéticas.....	34
3.4.2. Análise de Variância Molecular (AMOVA)	36
3.4.3. Análise em <i>clusters</i>	37
3.4.4. Análise de componentes principais (PCA).....	40
3.5. As Filipinas no contexto Este Asiático	41
3.5.1. Análise de distâncias genéticas.....	41
3.5.2. Análise de Variância Molecular (AMOVA)	43
3.5.3. Análise em <i>clusters</i>	44
3.6. Implicações forenses	46
4. Conclusões	48
5. Referências Bibliográficas	50
6. Anexos	55

Anexo 1 - Genótipos das 381 amostras da população das Filipinas usando o painel de 46 AIM-INDELs.

Anexo 2 - Análise de *Linkage Disequilibrium* par a par na população das Filipinas.

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Painel dos 46 AIM-INDELs incluídos na reação de PCR multiplex utilizada neste projeto indicando a sua localização no genoma e os alelos esperados para cada marcador (adaptado de Pereira <i>et al.</i> 2012).....	19
Tabela 2 - Sequência dos primers utilizados no sistema multiplex com identificação dos respectivos fluorocromos (adaptado de Pereira <i>et al.</i> 2012)	20
Tabela 3 - Parâmetros dos ciclos térmicos utilizados no sistema PCR	21
Tabela 4 - Distâncias genéticas (F_{ST}) calculadas entre as regiões Filipinas de Luzon, Visayas e Mindanao (abaixo da diagonal) e respectivos valores de p (acima da diagonal)	26
Tabela 5 - Análise de variância molecular (AMOVA) entre as regiões Filipinas de Luzon, Visayas e Mindanao	26
Tabela 6 - Frequências alélicas, heterozigotias observadas e esperadas, teste exato de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, e poder de discriminação para os 46 AIM-INDELs na população das Filipinas	29
Tabela 7 - Pares de loci em associação gamética após aplicação de Bonferroni para testes múltiplos e respectivas distâncias entre os pares de loci localizados no mesmo cromossoma.....	32
Tabela 8 - Distâncias genéticas (F_{ST}) calculadas entre os sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH (AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania) e a população das Filipinas (abaixo da diagonal), e respectivos valores de p (acima da diagonal)	35
Tabela 9 - Análise de variância molecular (AMOVA) ao nível global incluindo a população das Filipinas	36
Tabela 10 - Distâncias genéticas (F_{ST}) par a par calculadas entre as 18 subpopulações HGDP-CEPH do Este da Ásia (Han; Han-Nchina; Dai; Daur; Hezhen; Lahu; Miao;	

Oroqen; She; Tujia; Tu; Xibo; Yi; Mongola; Naxi; Cambodian; Japonese e Yakut), Taiwan e Filipinas	42
---	----

Tabela 11 - Análise de variância molecular (AMOVA) a nível intracontinental Este-Asiático	43
---	----

Índice de Figuras

Figura 1 – Mapa do arquipélago das Filipinas (Wikipédia; https://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Geografia_das_Filipinas&oldid=41724051) .. 2

Figura 2 - Rotas migratórias desde que a espécie humana deixou África há cerca de 80.000 anos atrás através do estreito de Bab el Mandeb ou Portão das Lágrimas para o resto do mundo (Furquim; <http://germanafurquim.blogspot.pt/2014/04/pintura-rupestre.html>)..... 3

Figura 3 - Subestrutura intrapopulacional do arquipélago das Filipinas (regiões de Luzon, Visayas e Mindanao) usando o painel de 46 AIM-INDELs (A); Probabilidade dos dados estimada (-LnP(D)) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B) 27

Figura 4 - Detalhe genotípico do marcador MID-548 em duas amostras apresentando-se um heterozigótico com os dois alelos esperados (à direita) e outro evidenciando um alelo variante (V) previamente não reportado na literatura..... 30

Figura 5 – Multidimensional scaling (MDS) de uma matriz de distâncias genéticas F_{ST} calculadas par a par entre sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH [AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania] e a população das Filipinas..... 35

Figura 6 – Análise da subestrutura populacional mundial através do *software* STRUCTURE incluindo dados genotípicos de sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH [AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania] e da população Filipina (A); Probabilidade dos dados estimada (-LnP(D)) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B)..... 38

Figura 7 - Análise de Componentes Principais (PCA) entre populações de cinco grupos continentais do painel de diversidade HGDP-CEPH (África; Europa; Este Ásia; Nativo-América e Oceania) e a população das Filipinas 40

Figura 8 - MDS da matriz de distâncias genéticas F_{ST} calculada par a par entre as 18 subpopulações HGDP-CEPH do Este da Ásia, Taiwan e Filipinas..... 43

Figura 9 - Análise da subestrutura populacional através do *software* STRUCTURE incluindo dados genotípicos de 18 subpopulações HGDP-CEPH do Este Ásia, Taiwan e Filipinas (A); Probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B)..... 45

Abreviaturas

AFR	África
AIM	<i>Ancestry Informative Marker</i>
AMOVA	Análise de variância molecular
CSA	Centro-Sul Ásia
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAS	Este Ásia
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
EUR	Europa
INDEL	<i>Insertion/Deletion Polymorphism</i>
IPATIMUP	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto
MDS	<i>Multidimensional scaling</i>
ME	Médio Oriente
min	Minutos
ml, µl	Mililitro, microlitro
mtDNA	DNA mitocondrial
NAM	Nativo-América
°C	Graus centígrados
OCE	Oceania
pb	Pares de base
PCA	Análise de componentes principais
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PD	Poder de Discriminação
RMP	<i>Random Match Probability</i>
seg	Segundos
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STR	<i>Short Tandem Repeat</i>

1.Introdução

1.1. Filipinas

O arquipélago das Filipinas encontra-se localizado no sudeste da Ásia, banhado pelo Oceano Pacífico, fazendo fronteira com Taiwan, Malásia, Indonésia e China. A sua densidade populacional estima-se em mais de 100 milhões de habitantes que estão dispersos por mais de 7.000 ilhas agrupadas através de critérios políticos, culturais e geográficos em três grandes grupos (Luzon, Visayas e Mindanao), que por sua vez estão subdivididas em 17 regiões que formam 80 províncias e 138 cidades (Delfin *et al.* 2014).

Num contexto antropológico as Filipinas são caracterizadas por uma ampla diversidade cultural, linguística e étnica constituindo, atualmente, mais de 170 grupos etnolinguísticos Filipinos (FE) reconhecidos com base no seu idioma e cultura. Destes grupos FE reconhece-se especial interesse nos grupos historicamente designados como ‘Negritos’ (FEN), cujos indivíduos apresentam um fenótipo pigmeu, ou seja, baixa estatura, cabelos crespos e cor de pele escura, pois ainda pouco se sabe sobre a sua diversidade genética (Delfin *et al.* 2011). É caracterizado como sendo um grupo muito diversificado que se distribui pelas ilhas das Filipinas, Semang, Andamán e Tailândia (Hill *et al.* 2006). Além disso, é um país situado num ponto estratégico na região da Ásia que estabelece ligação entre as Ilhas do Sudeste Asiático e a Oceania tornando-o pertinente para contrastar a diversidade observada nas suas próprias culturas, tradições étnicas e fisionomias (Tabbada *et al.* 2010).

As Filipinas apresentam características especialmente relevantes do ponto de vista antropológico, geográfico e demográfico. Desta forma, o arquipélago tornou-se objeto de investigação científica para compreender a origem e dispersão do Homem nas Filipinas. Por outro lado, reconhece-se a importância de caracterizar a diversidade genética e a estrutura das populações para compreender a evolução e a expansão do *Homo sapiens* nesta região do mundo (Zhang *et al.* 2007, Jinam *et al.* 2012).



Fig. 1 - Mapa do arquipélago das Filipinas (Wikipédia; https://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Geografia_das_Filipinas&oldid=41724051).

1.1.1. Breve história das Filipinas e do seu povoamento

A propensão dos seres humanos para migrar e explorar novos ambientes é uma particularidade bastante antiga que remonta há mais de dois milhões de anos quando os primeiros hominídeos deixaram África rumo a novos horizontes. Em virtude da sua notável capacidade de inovação e de adaptação aos mais diversos climas, inevitavelmente conseguiu habitar quase todos os lugares existentes no Planeta Terra (Krause 2009).

Evidências genéticas e arqueológicas sugerem que a expansão da espécie humana estende-se desde o continente Africano através da boca do Mar Vermelho pelo

estreito de Bab el Mandeb ou Portão das Lágrimas, há cerca de 80.000 anos atrás e, daí colonizaram todos os cantos do mundo (Oppenheimer 2012, Pugach *et al.* 2013). Contudo, para que isto seja possível, estes viajantes foram capazes de explorar os recursos marinhos costeiros, tirando proveito das praias (Oppenheimer 2012). Quando alcançaram o continente Euroasiático seguiram rumo ao longo da costa sul da Ásia em redor da Península Arábica chegando ao sudeste Asiático e Oceania onde há evidências de colonização humana que datam cerca de 55.000 e 60.000 anos atrás (Campbell & Tishkoff 2010). Subsequentemente, atravessaram a linha de Wallace chegando à massa de terra Sahul, que hoje é dividida em Papua Nova Guiné, Austrália e Tasmânia, aproximadamente há 50.000 anos atrás (Oppenheimer 2009, Jinam *et al.* 2012). Posteriormente, a espécie humana colonizou a Europa Ocidental, vindos do centro do continente Euroasiático há volta de 45.000 a 50.000 anos atrás. Esta colonização esteve ligada provavelmente a uma melhoria climática que abrange o período central da última glaciação (Oppenheimer 2009). Por último, a espécie humana conquistou o continente Americano atravessando o estreito de Bering nos últimos 15.000-30.000 anos atrás (Campbell & Tishkoff 2010, Stoneking & Delfin 2010).



Fig. 2 - Rotas migratórias desde que a espécie humana deixou África há cerca de 80.000 anos atrás através do estreito de Bab el Mandeb ou Portão das Lágrimas para o resto do mundo (Furquim; <http://germanafurquim.blogspot.pt/2014/04/pintura-rupestre.html>).

Relativamente ao povoamento das Filipinas, a presença humana na região é verificada por evidências fósseis, sendo que o mais primitivo resto humano foi encontrado na caverna de Callo no norte de Luzon, com uma idade entre 47.000-66.700 anos atrás, indicando uma ocupação antiga (Mijares *et al.* 2010, Oppenheimer 2012, Delfin *et al.* 2014). Contudo, no estudo da diversidade humana e das suas origens nesta região, é necessário ter em conta que o arquipélago das Filipinas se encontrava ligado com a massa continental de Sunda que englobava a península Malaia no continente Asiático, bem como as ilhas de Borneo, Java, Sumatra e ilhas envolventes, que facilitava o movimento migratório para as Filipinas ou através destas (Delfin *et al.* 2014). Por outro lado, a população Filipina é bastante heterogénea, da qual fazem parte os denominados grupos Negritos ou *Aetas* que tem cativado a comunidade científica devido a alguns aspectos da sua história e antropologia, como já referido anteriormente (Delfin *et al.* 2011).

A história e diversidade dos vários grupos indígenas que povoam a região é deduzida através do recurso a dados arqueológicos, linguísticos e genéticos (Jinam *et al.* 2012). Foi sugerido que a diversidade populacional nas Filipinas seja resultado de várias migrações para o arquipélago durante a época em que os níveis da água do mar eram muito baixos. Atualmente, existem mais de 20 grupos FE Negrito (FEN), aparentemente semelhantes aos pigmeus Africanos, e com características de subsistência de caçadores-colectores. Os primeiros estudos genéticos inferiram que a comunidade Negrito apresenta diferenças entre alguns grupos FEN, mas afinidade com os aborígenes Australianos e com os povos da Papua Nova Guiné (Delfin *et al.* 2011). Assim, é suportada a ideia de que estas populações representam os descendentes de uma migração precoce, através da rota do sul, para fora de África, sendo definidos como os primeiros ocupantes do arquipélago (Delfin *et al.* 2011, Delfin *et al.* 2014).

Todavia, este assunto tem sido bastante debatido devido a outras informações reportadas por outro tipo de material genético como o DNA mitocondrial (mtDNA) e o cromossoma Y. Estudos realizados com o cromossoma Y não suportam uma simples divisão entre os grupos Negrito (FEN) e os grupos não-Negrito (FEnN). Uma grande heterogeneidade dos grupos FE influenciada pela deriva genética e mistura não permite apoiar que os Aeta tenham sido os primeiros povoadores da região (Delfin *et al.* 2011).

Relativamente ao DNA mitocondrial, este revela aspetos consistentes com o cromossoma Y. Os padrões de diversidade do DNAm e a distribuição dos haplogrupos são consistentes com os apresentados pelo cromossoma Y, o que se pode dever a efeitos de deriva genética em grupos isolados com pequeno tamanho populacional (Delfin *et al.* 2014).

Através da interpretação de um conjunto de dados recolhidos é possível resolver uma série de questões relativas à origem e expansão da espécie humana. De forma a entender melhor a povoação das Filipinas, estudos genéticos foram realizados a um subgrupo da população Negrito, conhecidos como Batak. Este grupo apresenta especial interesse, uma vez que provém de uma ilha nas Filipinas, ilha de Palawa, que funciona como uma passagem natural entre o arquipélago Filipino e Borneo (Scholes *et al.* 2011). Uma subsequente análise com os marcadores do cromossoma Y e do DNA mitocondrial demonstra que este subgrupo não é distinto e isolado como outros subgrupos FEN. A análise genética evidência que os Batak são geneticamente distintos dos Negritos Filipinos das ilhas Andamán e da Península da Malásia, e que são parecidos com os restantes Negritos Filipinos e não-Negritos. Além disso, também foi detetada uma elevada proporção de mistura recente entre os Batak e grupos próximos. Graças a estes estudos, novos conhecimentos são adquiridos sobre a história e a estrutura genética dos grupos de Filipinos (Delfin *et al.* 2014).

Avanços tecnológicos impulsionaram o progresso na compreensão da história genética da Ásia e da Oceania. Tornou-se então pertinente encetar análises genéticas para tentar estimar o impacto e a contribuição das dispersões na estrutura genética das populações contemporâneas (Duggan & Stoneking 2014). Com a recolha de toda a informação disponibilizada por uma série de estudos no âmbito da Linguística, História e da Genética é possível confirmar que os atuais povoadores das Filipinas resultam de pelo menos três eventos populacionais que chegaram ao arquipélago em diferentes períodos de tempo, de forma contínua, e em períodos disfasados (Jinam *et al.* 2012). Os acontecimentos migratórios desempenham um papel fundamental nos debates sobre a diversidade populacional nas Filipinas. Como tal, vários modelos têm sido propostos para explicar a história populacional nas Ilhas do Sudeste da Ásia. Estes modelos diferem uns dos outros em termos de origem de dispersão, direção do movimento, e período de tempo dos eventos, sendo estes referenciados de forma cronológica (Hill *et al.* 2006).

A primeira onda migratória é marcada quando os humanos anatomicamente modernos (AMH) deixaram África por uma rota sul em direção à Ásia e colonizaram as Ilhas do Sudeste Asiático há uns 60.000 anos atrás, cujos primeiros povoadores seriam a população Negrito (Hill *et al.* 2006, Oppenheimer 2009, Stoneking & Delfin 2010, Jinam *et al.* 2012).

O segundo evento migratório baseia-se na hipótese popularmente conhecida como “Out of Taiwan”. Este modelo propõe que a segunda onda migratória teve origem na ilha de Taiwan entre um período de 8.000-6.000 anos atrás que se espalhou primeiro

para as Filipinas, tornando este arquipélago um ponto de referência para o estudo da subsequente expansão démica (Delfin *et al.* 2011, Delfin *et al.* 2014). De acordo com esta teoria, os humanos chegaram às Filipinas pelo estreito de Luzon (Norte) e seguiram um movimento para sul, chegando a Borneo e Indonésia (Hill *et al.* 2006). Contudo, esta expansão demográfica, está associada com a propagação da agricultura (cultivo do arroz) e com a domesticação, ou seja, definitivamente com o Neolítico Asiático (Krause 2009, Heyer *et al.* 2013). Por outro lado, uma variante deste modelo chamada de “Express Train to Polynesia” sugere uma distribuição da população que ocorreu no sentido norte-sul atravessando as Filipinas num período muito curto e com pouca mistura com as populações das Filipinas existentes ao longo do caminho. Esta teoria é apoiada por evidências linguísticas, defendendo que a expansão ocorreu de forma muito rápida. Outra variante proposta a este modelo, é o “Slow Boat to Polynesia”, cujos movimentos populacionais ocorreram na mesma direcção que a hipótese “Express Train to Polynesia”, mas de forma mais lenta, ocorrendo mais mistura entre as populações ao longo do caminho, resultando em fenómenos de miscigenação entre as populações ancestrais e as recém-chegadas (Kayser *et al.* 2006).

Contudo, existe um conjunto alternativo de hipóteses que não apoiam as teorias acima apresentadas. Este grupo de teorias defende que o principal centro de dispersão populacional se encontra situado entre a região sul das Filipinas e Sulawesi. Nesta hipótese, a direcção do movimento das populações é no sentido sul-norte, ou seja, contrária à direcção defendida pela teoria “Out of Taiwan” (Meacham 1988).

Por fim, a última ocorrência migratória está associada a migrações recentes vindas tanto da massa continental do Sudeste da Ásia pela via de Taiwan, como de regiões do sul de Borneo, Malásia e inclusivé Oceania. Tais movimentos migratórios ocorreram em épocas históricas, estando associados a desenvolvimentos nas técnicas de navegação, ao conhecimento do meio ambiente, e à abertura de rotas de comércio. Desta forma, o desenvolvimento de novas inovações culturais permitiram a expansão e o crescimento da população humana (Krause 2009).

As ondas migratórias que ocorreram no leste da Ásia tiveram um papel importante na história da população humana. De tal forma, que toda a diversidade populacional no arquipélago das Filipinas resulta da contribuição destes três eventos de dispersão que variam geograficamente. No entanto, a recolha de informações obtidas a partir do material genético dos cromosomas uniparentais tem sido fundamental para compreender melhor estes movimentos de dispersão.

1.1.2. Contributo de estudos genético-populacionais

Numerosos estudos genético-populacionais revelaram uma série de fundamentos sobre a população das Filipinas e sua história. Marcadores genéticos uniparentais como o DNA mitocondrial e o cromosoma Y tornaram-se ferramentas importantes na reconstrução de eventos demográficos da evolução humana, assim como na compreensão da diversidade genética das populações do arquipélago das Filipinas (Zhang *et al.* 2007).

O DNA mitocondrial encontra-se situado na mitocôndria e é transmitido à geração seguinte exclusivamente por via materna, transportando, assim, informação sobre a história feminina de *Homo sapiens*. Este tipo de marcador apresenta elevada taxa de mutação, o que o torna mais informativo em relação aos restantes marcadores, nomeadamente autossómicos e cromosoma Y, possibilitando traçar eventos evolutivos e migrações em períodos de tempo muito curtos. Por outro lado, o cromosoma Y é herdado exclusivamente por via paterna, aportando toda a informação sobre a história evolutiva do homem, para além de apresentar uma distribuição de haplogrupos específicos na população, que se podem situar na geografia e no tempo, tal como o DNA mitocondrial (Zhang *et al.* 2007).

Através da identificação dos haplogrupos presentes na população atual das Filipinas conseguiu-se uma melhor compreensão da sua história genética. Os padrões de variação do DNAMt foram extensivamente estudados em populações do Sudeste Asiático e Oceania tendo sido posteriormente comparados para obter informação sobre a história das populações locais (González-Martín *et al.* , Hill *et al.* 2006).

Associadas à primeira invasão do *Homo sapiens* nas Filipinas, as linhagens mais antigas do DNAMt foram encontradas com elevada frequência em grupos isolados da Malásia peninsular e em baixas frequências na população do Sudeste Asiático, indicando um povoamento arcaico da região através do continente (González-Martín *et al.*).

Os principais haplogrupos encontrados nas populações das Filipinas (M7b3, E1a1a, B4a1a, B4b1, M7c3c e B4c1b) são compartilhados com grupos aborígenes de Taiwan, datando de uma antiguidade compreendida entre o período pós-glacial e o pré-neolítico, ou seja, entre 25.000 e 15.000 anos atrás (Hill *et al.* 2006). Contudo, é necessário ter em conta que esta datação corresponde à origem do haplogrupo, ou seja, com o surgimento das variantes genéticas que os definem, e não com o povoamento do arquipélago das Filipinas. Outros estudos mais aprofundados destes haplogrupos determinam que as variantes mais antigas vieram da ilha de Taiwan.

Uma particularidade bastante relevante de alguns destes haplogrupos (B4a1a, E1a1a, M7c3c) prende-se com o facto de existir uma diminuição geral de diversidade

no segmento hipervariável I (HVS-I) para um gradiente norte-sul, ou seja, desde Taiwan até Filipinas e Sulawesi (Hill *et al.* 2006). Neste sentido, torna-se pertinente estudar o comportamento da variante M7c3c, uma vez que se datou a sua antiguidade em diferentes regiões: 14.000 anos atrás em Taiwan, 11.400 anos atrás nas Filipinas e 4.400 anos atrás em Sulawesi. Além disso, também existem outros haplogrupos identificados em Taiwan que apresentam um padrão semelhante aos haplogrupos já mencionados, referenciados como F3b e F4b (Tabbada *et al.* 2010).

A informação recolhida até ao momento através da análise dos padrões de diversidade dos haplogrupos do DNAm_t permitiu estabelecer um modelo povoamento da região que se baseia numa colonização via Taiwan com uma expansão demográfica no sentido norte-sul, o que é consistente com o modelo “Out of Taiwan” (Delfin *et al.* 2011). Contudo, existem variantes mitocondriais que indicam outro modelo não coincidente com o movimento norte-sul. Este novo modelo conhecido como “Motivo Polinésio” é um subagrupamento único do haplogrupo B4a1a que foi encontrado com elevadas frequências em polinésios e está associado à expansão populacional no Sudeste da Ásia e no Pacífico (Hill *et al.* 2006). Embora este haplogrupo seja observado com uma frequência similar em Taiwan, Filipinas e Sulawesi, o seu precursor (B4a1a1) não foi detetado em Taiwan. Este precursor foi encontrado nas Filipinas, Oceania, nas ilhas do Sudeste Asiático, e na massa continental Asiática o que apoia um modelo de movimentos oposto à teoria “Out of Taiwan”, que argumenta que as linhagens B4a1a1 podem ter sido trazidas para as Filipinas através de uma migração da Indonésia (Hill *et al.* 2006).

A análise dos padrões de diversidade dos haplogrupos do DNAm_t mais frequentes nas Filipinas e restantes ilhas do Sudeste Asiático revelam um movimento populacional no sentido norte-sul, plausível com a teoria “Out of Taiwan”. Contudo, ainda existe uma certa ambiguidade com um possível movimento no sentido contrário (sul-norte) e que, portanto, apoiaria a hipótese oposta (Hill *et al.* 2006).

Com a análise dos haplogrupos mitocondriais podemos aprofundar conhecimentos sobre a dinâmica e movimentos da espécie humana. Porém, para obter mais informação é necessário recorrer a outros métodos analíticos para obtenção de resultados mais consistentes e integrados, como por exemplo marcadores do cromossoma Y e marcadores autossómicos.

Outros estudos realizados com o DNAm_t em parceria com o cromossoma Y mostraram uma grande afinidade entre os Yamis e os Ivatans devida ao fluxo genético entre Taiwan e Filipinas como resultado de um tufão destrutivo no início do século 18 que obrigou os Ivatans a mover-se para sul, para uma ilha mais abrigada como Luzon.

Contudo, no final do século 19 muitas destas pessoas moveram-se de volta para Batanes. Apesar de cada população da ilha mostrar maior afinidade com a ilha principal mais próxima (Yami com Taiwan, e Ivatan com Filipinas), é de esperar que o perfil genético da população de Batanes apresente alguma similaridade com a população de Luzon (Delfin *et al.* 2011).

Investigações realizadas com o cromosoma Y nas populações das Filipinas, revelam uma elevada heterogeneidade dos grupos FE que pode ter sido influenciada pela deriva genética e mistura, não suportando uma simples dicotomia entre os grupos Negrito (FEN) e não-Negrito (FEnN) como já referido (Delfin *et al.* 2011). Linhagens do cromosoma Y na população Filipina (O-M119, C-RPS4Y, K-M9) sugerem diversas afinidades genéticas dos grupos FE com diferentes populações da região Ásia-Pacífico, assim como diferenças genéticas entre os próprios grupos FE. Os haplogrupos K-M9 e C-RPS4Y revelam um ancestral comum para os grupos FEN. Além disso, uma análise nos grupos FE para o haplogrupo mais frequentemente observado, haplogrupo O, sugere que este se expandiu para as Filipinas através de Taiwan, ou de outro lugar do Este Asiático em associação com a expansão *Austronesian* (Delfin *et al.* 2011).

Recentemente, foi realizado um estudo para caracterizar o pool genético das Filipinas utilizando o painel de 27 Y-STR incluídos no *kit* YFiler Plus para 74 amostras de indivíduos não relacionados, das três principais divisões geográficas: Luzon, Visayas e Mindanao. No referido estudo, uma análise de distâncias genéticas F_{ST} entre a população das Filipinas e outras populações do Sudeste Asiático também foi realizada para investigar a diversidade do haplótipo do Y das Filipinas no contexto do Sudeste Asiático. Os resultados não mostram diferenças significativas entre as 74 amostras coletadas e outras amostras pertencentes à população das Filipinas, umas referentes à população em geral e outras restritas à região de Luzon. Por outro lado, foram encontradas diferenças significativas quando se compara qualquer das amostras pertencentes à população das Filipinas com as populações do Vietnam e de Singapura (Fernanda Miranda-Barros 2015).

Os resultados apresentados através do cromosoma Y parecem ser consistentes com os analisados com o DNAm. Contudo, uma visão mais ampla da história e diversidade populacional do arquipélago das Filipinas pode ser procurada através do estudo de polimorfismos em todo o genoma humano, alargando-se à caracterização de marcadores localizados nos autossomas (Hill *et al.* 2006).

1.2. Polimorfismos de DNA

No genoma humano um locus é definido como polimórfico quando pelo menos dois alelos na população apresentam uma frequência igual ou superior a 1% (Jobling *et al.* 2013).

As sequências de DNA humano englobam diferentes tipos de polimorfismos, que podem ser classificados de acordo com as suas características. Desta forma, podemos ter polimorfismos de sequência, se ocorrer a substituição de um ou mais nucleótidos na sequência de DNA. Por outro lado podemos ter polimorfismos de tamanho que são caracterizados pela inserção ou deleção de um ou mais nucleótidos na sequência genómica, sendo estes últimos bastante frequentes nos microssatélites (Fondevila *et al.* 2011, Jobling *et al.* 2013) e em inserções/deleções (INDELs) de pequenos segmentos de sequência aparentemente aleatória (Weber *et al.* 2002, Mills *et al.* 2006).

1.2.1. Microssatélites ou *Short Tandem Repeats* (STRs)

Os microssatélites ou *Short Tandem Repeat* (STRs) são polimorfismos de tamanho que se baseiam em repetições em *tandem* de unidades básicas que variam entre 1 a 6 pb de comprimento. O número total de repetições num locus pode variar entre 10 a 30 unidades repetitivas (Jobling *et al.* 2013).

O potencial dos STRs foi amplamente explorado em genética molecular humana, e especialmente em genética forense, tornando-se rapidamente bastante populares e úteis no auxílio de diversas investigações devido às vantagens que apresentam:

- Possuem elevado grau de polimorfismo em populações humanas e são predominantemente multialélicos (Pereira & Gusmao 2012);
- Apresentam elevado poder de discriminação (Akhteruzzaman *et al.* 2013);
- Presentes em grande número por todo o genoma humano, tanto nos autosomas como nos cromosomas sexuais.
- Maioria dos STR são marcadores neutros, ou seja não expressam efeitos fenotípicos, especialmente os utilizados em aplicações forenses (Jobling *et al.* 2013);
- São fáceis de analisar através de amplificação por PCR (Polymerase Chain Reaction) e a um custo moderado (Akhteruzzaman *et al.* 2013);

A genotipagem de STRs em testes forenses de identificação humana é robusta e confiável para amostras que contêm quantidades relativamente pequenas de DNA, constituindo claramente a abordagem padrão nesta área científica. Contudo, este tipo de marcador apresenta algumas limitações aquando da análise de amostras altamente degradadas, começando pelo tamanho do amplicão relativamente grande que varia entre os 100-400 pb. Por outro lado, este tipo de marcador genético tende a formar artefactos do tipo *stutter* que podem adicionar ambiguidade no processo de genotipagem, especialmente em análises de misturas. Por fim, a elevada taxa de mutação pode ser um fator de confusão em análises de parentesco, favorecendo uma hipótese de exclusão (LaRue *et al.* 2012, Pereira & Gusmao 2012).

Os STRs não serão, portanto, os marcadores genéticos mais apropriados para a análise de amostras degradadas ou com baixo número de cópias de DNA quando comparados com outros marcadores analisáveis em amplicões mais curtos que constituem boas alternativas no estudo deste tipo de amostras (da Costa Francez *et al.* 2012, LaRue *et al.* 2012).

1.2.2. *Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)*

Polimorfismos com base na simples substituição de um único nucleótido ou *Single Nucleotide Polymorphisms* foram os primeiros marcadores bi-alélicos ou binários a serem amplamente explorados (Moura-Neto *et al.* 2015). Os SNPs podem ter um impacto considerável sobre a função dos genes, podendo ser responsáveis por doenças e alterações fenotípicas em seres humanos (Mills *et al.* 2006).

Embora os SNPs se encontrem amplamente distribuídos por todo o genoma e possuam uma baixa taxa de mutação, é necessário um maior conjunto de marcadores SNP para conseguir atingir o mesmo poder de discriminação que os STR (Amorim & Pereira 2005, Akhteruzzaman *et al.* 2013). Em contrapartida, o tamanho de amplicão curto (~50 bp) favorece a análise de amostras altamente degradadas com baixas quantidades de DNA. Por último, como os SNPs não envolvem sequências repetitivas como os STR, não tendem a ocorrer a formação de *stutter* que dificultam a interpretação dos perfis obtidos (Kayser & de Knijff 2011).

Os SNPs envolvem protocolos de genotipagem complexos e trabalhosos, assim como o uso de tecnologias mais dispendiosas, ao contrário de outro tipo de marcadores binários que são passíveis de protocolos de genotipagem mais simples e convenientes,

como por exemplos os polimorfismos de tamanho do tipo INDEL (Pereira *et al.* 2009, da Costa Francez *et al.* 2012, Huang *et al.* 2014)

1.2.3. Polimorfismos de Inserção-Deleção (INDELs)

As inserções-deleções são polimorfismos de tamanho que se caracterizam pela inserção ou deleção de um ou mais nucleótidos (normalmente de 1 a 50 pb) na sequência do genoma (Fondevila *et al.* 2011). Apesar deste tipo de variação ser muito abundante no genoma humano representando cerca de 15-20% de todos os polimorfismos de DNA, receberam relativamente pouca atenção em seres humanos (Mills *et al.* 2006, Pepinski *et al.* 2013).

Sendo bastante comuns em todo o genoma humano, tal como outras formas de variação genética, os INDELs são de grande interesse científico porque podem ter impacto sobre fenótipos humanos, nomeadamente doenças. Por exemplo, a fibrose cística é frequentemente causada por uma deleção de três pb no gene CFTR (Mills *et al.* 2006). Desta forma, os INDELs aparecem como uma importante forma de variação genética a explorar, em estudos de genética das populações humanas e em genética clínica, designadamente na localização de marcadores associados a funções de genes e diagnóstico de doenças (Oka *et al.* 2014). Recentemente, os INDELs tem recebido especial atenção por parte da comunidade científica.

Em 2002, Weber *et al.* identificaram e caracterizaram 2000 INDELs bi-alélicos humanos que variam em comprimento e destacou a utilidade destes marcadores em estudos genéticos referenciando a sua abundância e facilidade de análise (Weber *et al.* 2002). Mais tarde, em 2006, Mills *et al.* conduziram um estudo para identificar INDELs e apresentaram um mapa inicial de variações de INDELs no genoma humano contendo mais de 450,000 polimorfismos únicos com uma densidade média de 7.2 kb por INDEL. De acordo com o estudo, os INDELs representam 16% de todos os polimorfismos de DNA humano. Aproximadamente 36% destes INDELs estão localizados dentro de promotores, intrões e exões de genes conhecidos. Além disso, Mills *et al.* (2006) identificam cinco principais classes de INDELs:

1. Inserção ou deleção de um único par de bases;
2. Expansões de pares de bases monoméricas;
3. Expansões de múltiplas pares de bases de 2-15 pb de unidades de repetição;
4. Inserções de transposições;
5. INDELs contendo sequências de DNA aleatórias.

Esta última classe particular de INDELs de sequências de DNA aleatórias representa 41% de todos os INDELs e contém polimorfismos com uma gama de variações de comprimento de 2 até 10 kb, sendo a esmagadora maioria deles menores de 100 bp (Mills *et al.* 2006). Especialmente estes “pequenos” INDELs (Mullaney *et al.* 2010) tornaram-se interessantes como marcadores genéticos em estudos populacionais e forenses porque combinam de uma forma interessante características vantajosas dos tipos de marcadores que vinham a ser utilizados até então, os STRs e SNPs (Pereira *et al.* 2009):

- Possuem baixas taxas de mutação (Nachman & Crowell 2000);
- Podem ser analisados em amplicões curtos (50-150 pb), o que melhora a amplificação do DNA em amostras degradadas (e.g. Pereira *et al.* 2009, Romanini *et al.* 2015);
- Podem ser facilmente genotipados por PCR seguido de eletroforese, uma vez que os alelos apresentam tamanhos distintos (Weber *et al.* 2002, Pereira *et al.* 2012).

O protocolo de análise simples, baseado em amplificação por PCR multiplex com primers marcados com diferentes fluorocromos seguido de separação dos alelos por eletroforese capilar, reduz consideravelmente os passos necessários para a genotipagem de um grande número de marcadores numa reação, por oposição aos métodos complexos de genotipagem dos SNPs (Fondevila *et al.* 2011). Isto torna-se vantajoso em termos de tempo e de custos, assim como minimiza os riscos de contaminação. Por outro lado, ao utilizar o mesmo método de genotipagem dos STR já amplamente estabelecido nos laboratórios forenses, a sua implementação é fácil e não implica alterações metodológicas e/ou infraestruturais (Pereira *et al.* 2009, da Costa Francez *et al.* 2012).

As propriedades dos INDELs tornaram estes marcadores úteis e vantajosos em aplicações forenses, especialmente na análise de DNA antigo ou degradado, devido ao tamanho de amplicão reduzido, e como ferramenta complementar aos STR em testes de parentesco, devido à sua baixa taxa de mutação (Pereira & Gusmao 2012).

O interesse por parte da comunidade científica no uso dos INDELs tem-se evidenciado em diferentes projetos de investigação já publicados, por exemplo na inferência de estrutura populacional e estimativa de proporções de ancestralidade (Rosenberg *et al.* 2005, Yang *et al.* 2005, Pereira *et al.* 2012), e estudos de identificação humana (Pereira *et al.* 2009, LaRue *et al.* 2014).

Atualmente, a genotipagem de INDELs representa uma abordagem eficaz na identificação de indivíduos, tendo adicionado novos loci informativos ao conjunto de

marcadores forenses já existentes. Em 2009, Pereira *et al.* desenvolveram um painel de 38 INDELs para fins de identificação humana, sendo portanto uma ferramenta apropriada na análise de amostras da cena do crime. A nível comercial, foi também desenvolvido o DIPplex kit (Qiagen) para a análise simultânea de 30 INDELs e amelogenina (LaRue *et al.* 2012).

Por outro lado, os INDELs também se evidenciam adequados para investigar a estrutura genética das populações humanas. Consequentemente, em 2012 Pereira *et al.* desenvolveram também um ensaio simples mas altamente informativo combinando 46 INDELs selecionados primariamente para estimar proporções de mistura de quatro diferentes origens ancestrais (Africana, Europeia, Este Asiática e Nativo-Americana), embora o sistema se tenha demonstrado também eficiente na inferência biogeográfica a nível dos cinco grandes continentes quando incluídas amostras da Oceania (Pereira *et al.* 2012).

Neste contexto, no âmbito do presente projeto de Mestrado desenvolvemos a ideia de avaliar as distribuições alélicas e a ancestralidade biogeográfica do arquipélago das Filipinas aplicando este painel de 46 INDELs.

1.3. Inferência de ancestralidade biogeográfica

O estudo de um conjunto de marcadores de DNA pode permitir conhecer rotas migratórias dos nossos antepassados, situando-as no tempo e no espaço, e assim ajudar a compreender e construir a história da espécie humana.

Análises de estrutura da população humana à escala mundial têm mostrado que é possível identificar grandes grupos continentais quando examinado um grande número de marcadores genéticos ou conjuntos de marcadores cuidadosamente selecionados para o efeito, denominados marcadores informativos de ancestralidade (AIMs).

1.3.1. Marcadores informativos de ancestralidade (AIMs)

Os marcadores informativos de ancestralidade apresentam elevada divergência nas frequências alélicas entre populações com diferente ancestralidade ou geograficamente distantes. No campo da genética populacional, os AIMs são particularmente úteis para inferir a origem de indivíduos, estimar proporções de ancestralidade em populações miscigenadas, e analisar a estrutura dessas populações (Fondevila *et al.* 2011). Adicionalmente, podem ajudar a compreender dinâmicas migratórias e eventos de colonização. Os primeiros AIMs a serem explorados em aplicações forenses foram o DNA mitocondrial e os polimorfismos do cromossoma Y. Contudo, uma desvantagem do uso de marcadores uniparentais é o facto de apenas fornecerem informação sobre a ancestralidade materna e paterna (Kersbergen *et al.* 2009).

Assim, o uso de AIMs autosómicos reveste-se de especial interesse em casos forenses. A maioria dos conjuntos de AIMs desenvolvidos com este propósito envolvem SNPs, mas também os INDELs podem ser usados para o mesmo fim. Nos últimos anos foram selecionados e publicados diferentes painéis de AIMs que variam no tipo de polimorfismo e número de loci envolvidos, bem como nas estratégias de genotipagem (Phillips *et al.* 2007, Halder *et al.* 2008, Santos *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2012). No caso dos marcadores binários, os AIM-INDELs conseguem oferecer um potencial similar ao dos AIM-SNPs na inferência de ancestralidade genética, com a vantagem de serem simplesmente genotipados por meio de PCR seguido de eletroforese capilar, sendo mais fácil a sua implementação em laboratórios forenses (Santos *et al.* 2015).

A adequada inferência da ancestralidade genética de uma amostra está dependente da existência de populações de referência adequadas para cada componente ancestral em estudo. Idealmente essas bases de dados de referência têm um grande catálogo de marcadores genotipados num grupo alargado de populações representativas da distribuição da variabilidade genética em todo o globo, o que irá permitir subseqüentes análises direcionadas aos objetivos dos diferentes estudos.

1.3.2. Aplicações forenses

O estudo de polimorfismos de DNA em genética forense tem permitido dar resposta a uma série de questões relativas à identificação de vestígios e/ou suspeitos, bem como a investigações de parentesco, mas sempre numa perspetiva comparativa clássica. Mais recentemente, a comunidade forense tem-se dedicado também a extrair informação de dados genéticos obtidos a partir de vestígios biológicos relativamente aos quais não há perfis para comparar (Kayser & de Knijff 2011).

Na ausência de qualquer outra pista, ou seja, caso nenhum suspeito tenha sido identificado e não haja nenhuma correspondência em bases de dados de DNA, uma análise com AIMs pode ser útil para determinar a origem biogeográfica de um vestígio, permitindo assim ajudar na orientação de investigações policiais. Os AIMs podem ser ferramentas valiosas na análise de amostras de cena do crime, mas também em casos de pessoas desaparecidas e desastres de massas (Kayser & de Knijff 2011, Fondevila *et al.* 2012, Gross *et al.* 2013).

Atualmente, a maioria dos testes de DNA para inferir ancestralidade biogeográfica fornecem uma deteção ao nível das grandes regiões geográficas, mas também já é possível obter alguma diferenciação ao nível sub-regional, especialmente utilizando plataformas de alto rendimento que analisam centenas de milhares de marcadores em simultâneo.

No caso particular do painel de 46 AIM-INDELs utilizado neste projeto, as suas aplicações estendem-se desde a inferência de ancestralidade e estimativa de proporções de mistura em estudos de genética populacional e clínica (Pereira *et al.* 2012, Saloum de Neves Manta *et al.* 2013, Campanella *et al.* 2014), até aplicações forenses particularmente exigentes como são as análises de restos ósseos com mais de 35 anos post-mortem (Romanini *et al.* 2015). Apesar de não ter sido desenhado para estudos de identificação, o poder de discriminação que é possível atingir com este sistema permite um considerável potencial de aplicação nesta área.

1.4. Objetivos

O arquipélago Filipino apresenta uma enorme diversidade populacional, pelo que se torna pertinente recolher toda a informação da composição genética da população para entender a sua origem e reconstruir a história geográfica do arquipélago.

Parte de um projeto abrangente de caracterização genética da população das Filipinas através do estudo integrado de linhagens do DNAMt, cromossoma Y e de marcadores autossómicos na população das Filipinas, o principal objetivo do presente trabalho é analisar a distribuição de INDELs autossómicos informativos de ancestralidade no arquipélago e investigar a sua estrutura populacional. Assim, objetivou-se estimar frequências alélicas de um painel de 46 destes polimorfismos e avaliar a sua eficiência e utilidade em contexto forense.

Na persecussão destes objetivos globais foram estabelecidas etapas e objetivos intermédios:

- Genotipagem dos 46 AIM-INDELs num universo de 381 amostras Filipinas através de um sistema de amplificação em multiplex;
- Estabelecimento de uma base de dados genéticos para estes 46 marcadores na população Filipina;
- Análise dos dados genéticos a nível intrapopulacional (estimativa de frequências alélicas e análise de estrutura populacional);
- Enquadramento dos resultados obtidos num contexto continental e mundial;
- Avaliação da informatividade do painel utilizado em aplicações forenses.

2. Materiais e Métodos

2.1. Amostragem

A amostragem foi realizada pelo Professor Ant3nio Gonz3lez Martin e colaboradores (Facultad de Ciencias Biol3gicas, Universidad Complutense de Madrid) de forma a abranger indiv3duos nascidos ao longo de todo o arquip3lago Filipino. Para efeitos do presente estudo, foram caracterizados um total de 381 indiv3duos n3o aparentados naturais das regi3es de Luzon (n=307), Visayas (n=58) e Mindanao (n=16).

Todas as amostras envolvidas no estudo correspondem a extratos de DNA obtidos a partir de zaragotoas bucais com consentimento informado por escrito e seguindo os protocolos da Comiss3o de Sa3de Filipina e da Comiss3o de Bio3tica da Universidade das Filipinas, em circunst3ncias estritamente an3nimas, de indiv3duos saud3veis para fins de investiga33o. Os crit3rios de amostragem, tamb3m foram certificados atrav3s de inqu3ritos pessoais confidenciais com dados referentes aos lugares de nascimento dos pais, av3s paternos, av3s maternos e do pr3prio indiv3duo, assim como informa33o sobre o sexo dos indiv3duos, a fim de evitar parentescos e definir as origens geogr3ficas.

Com vista a realizar uma an3lise de dados abrangente, designadamente para a an3lise de estimativas de ancestralidade foram tamb3m utilizados neste estudo dados gen3ticos publicados para o mesmo conjunto de marcadores AIM-INDEL em 949 amostras do painel de diversidade padronizado HGDP-CEPH contendo popula33es de refer3ncia de 3frica (AFR), Europa (EUR), M3dio Oriente (ME), Centro-Sul 3sia (CSA), Este 3sia (EAS) e Nativo-Am3rica (NAM); e em 48 amostras de Taiwan (Pereira *et al.* 2012), embora neste caso apenas para 44 marcadores.

2.2. Tipagem dos marcadores INDELs

2.2.1. Amplificação por PCR multiplex

A amplificação dos 46 marcadores autossômicos foi realizada em multiplex, permitindo amplificar numa única reação PCR os 46 AIM-INDELs (Tabela 1) selecionados por Pereira *et al.* (2012) e caracterizados neste estudo.

Tabela 1 - Pannel dos 46 AIM-INDELs incluídos na reação de PCR multiplex utilizada neste projeto indicando a sua localização no genoma e os alelos esperados para cada marcador (adaptado de Pereira *et al.* 2012).

Marcador genético*	Número rs	Cromossoma	Posição (pb)**	Alelos descritos na dbSNP
MID-1470	rs2307666	11	64729920	-/GTTAC
MID-777	rs1610863	16	6551830	-/GAA
MID-196	rs16635	6	99789775	-/CAT
MID-881	rs1610965	5	79746093	-/ACTT
MID-3122	rs35451359	18	45110983	-/ATCT
MID-548	rs140837*	6	3708909	-/CT
MID-659	rs1160893	2	224794577	-/CT
MID-2011	rs2308203	2	109401291	-/CTAGA
MID-2929	rs33974167	8	87813725	-/TA
MID-593	rs1160852	6	137345857	-/TT
MID-798	rs1610884	5	56122323	-/GGGAAA
MID-1193	rs2067280	5	89818959	-/AT
MID-1871	rs2308067	7	127291541	-/TT
MID-17	rs4183	3	3192524	-/TAAC
MID-2538	rs3054057	15	86010538	-/AACA
MID-1644	rs2307840	1	36099090	-/GT
MID-3854	rs60612424	6	84017514	-/TCTA
MID-2275	rs3033053	14	42554496	-/TCAGCAG
MID-94	rs16384	22	42045009	-/AAC
MID-3072	rs34611875	18	67623917	-/GCCCCCA
MID-772	rs1610859	5	128317275	-/TAG
MID-2313	rs3045215	1	234740917	-/ATTATAACT
MID-397	rs25621	6	139858158	-/TTCT
MID-1636	rs2307832	1	55590789	-/AA
MID-51	rs16343	4	17635560	-/TTTAT
MID-2431	rs3031979	8	73501951	-/ATTG
MID-2264	rs34122827*	13	63778778	-/AAGT
MID-2256	rs133052	22	41042364	-/CAT
MID-128	rs6490	12	108127168	-/ATT
MID-15	rs4181	2	42577803	-/AAATACACAC
MID-2241	rs3030826	6	67176774	-/GTCCAATA
MID-419	rs140708	6	170720016	-/AATGGCA
MID-943	rs1611026	5	82545545	-/TGAT
MID-159	rs16438	20	25278470	-/CCCCA
MID-2005	rs2308161	10	69800909	-/AACAAT
MID-250	rs16687	7	83887882	-/CA
MID-1802	rs2307998	5	7814345	-/GGA
MID-1607	rs2307803	3	108981031	-/TG
MID-1734	rs2307930	6	84476378	-/CCAT
MID-406	rs25630	6	14734341	-/AG
MID-1386	rs2307582	1	247768775	-/AAACTATTTCATTTTACCCT
MID-1726	rs2307922	1	39896964	-/CAAGAACTATAAT/CACTATCTATTAT
MID-3626	rs11267926	15	45526069	-/AATATAATTTCTCCA

Marcador genético*	Número rs	Cromosoma	Posição (pb)**	Alelos descritos na dbSNP
MID-360	rs25584*	12	112145217	-/AA
MID-1603	rs2307799	5	70828427	-/TTGT
MID-2719	rs34541393	20	30701405	-/AACT

*Nomenclatura de acordo com (Weber *et al.* 2002) e base de dados de polimorfismos de inserção/deleção Marshfield;

**Mapeamento de dados de acordo com dbSNP.

As sequências dos primers e respectivas marcações utilizados neste sistema 46plex, são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 - Sequência dos primers utilizados no sistema multiplex com identificação dos respetivos fluorocromos (adaptado de Pereira *et al.* 2012).

Marcador genético	Sequências dos primers marcados	Sequência dos primers não marcados
MID-1470	6FAM-GAGTCTGACCCTTCATAAGC	gCCATGGTGATATTACGTCCC
MID-777	6FAM-TGGAAGACACGTCTTAAGAG	gTATTCCTCCAGGCTCTTTGC
MID-196	6FAM-CCAAGTTCTAGCCATATGGA	gtttctGACTATCTTCTCTGACCATC
MID-881	6FAM-TTGGCTCCCTATGATAATCC	gtttcTTGTGTTCCCAAAGTTCTCC
MID-3122	6FAM-TCACAAGTCCGGAATACCAG	gAGTTATGGGATGGGAAGGAG
MID-548	6FAM-AGTCAGGACTGAAGAAACCC	gtttCAGTAAAACAAGAGCCCGTG
MID-659	6FAM-CACTGCATCAGACTGACTTC	gtttctGGCTGCTTTGCTTTGAATTG
MID-2011	6FAM-TGAGAACTAGGAGCTCTGG	gfTTCCTAAGAGCCACTGACAT
MID-2929	6FAM-TGTGATGTGGATAGGCAAGG	gAGGCTCCATTTGTAAAGAGG
MID-593	6FAM-TGCTCACTTTAGTGAGACC	gfTTGCGTTTAGGTCCCTTCTG
MID-798	6FAM-ACGACAGTGTTCACAAAGAG	gCTGTTGTCTGACCTGTGAAG
MID-1193	6FAM-GCTGGGTAGTTTTTCTCTCC	gfTCCACCATCTACCTTCTATG
MID-1871	6FAM-TTGTAGTCAGAGAGTGTGCC	gAGCCTTTTCCCTAACGTCAC
MID-17	6FAM-AGAACTGCAACCCTCCAAG	GATCCCAGACACTGAAGATG
MID-2538	6FAM-CTCGCAAAGTAGGCAAGTTC	gACACCAACAATCTTGGCACC
MID-1644	6FAM-ACACCACTGAAGATCTGACC	GGTCTAAAGTCAGTGCACAG
MID-3854	VIC-TCACCCTTATTCAGGGTTGC	GCCAGGGATTTAGTGTAGAG
MID-2275	VIC-CTACCTGACTACCACCTATG	gACCCAGCCTATCTGACTTTG
MID-94	VIC-TGGTGGCTCATGCACTTTTG	gtttACAGGGTCTCGCTATGATGC
MID-3072	VIC-AGCTTTTCCGGCAACTCTC	gttTGGATGTGTCTGAGCTCAAC
MID-772	VIC-GTCTCRTTTTCTGCAGTAG	gtttctATCCTTCTGCTCACTTACC
MID-2313	VIC-GCACACATGCAGAAATGCAG	GTTGTAACATCTGTGAGGTC
MID-397	VIC-TGGGCTTCTTCTGGGAAAAC	gCCACATTCAAGCGTTTTGTC
MID-1636	VIC-TTAGGAAGAGGTGCTATGGG	gCCTCCTTTGAAGACACACAG
MID-51	VIC-AAGATTGGAGGGAAAAGTGC	gCGTCCCTCCACCTTCTTTTTC
MID-2431	VIC-AGGAGGAGCTGATAGACTTC	GCAGTGTGCAACTGATACG
MID-2264	VIC-CTTTGGCTATCCTGTCTCAC	GTAGGAGACCACTCACATTC
MID-2256	NED-ATCGAACCGTTCCTAAGGAC	GTCAGGAGTCTAGAACTTC
MID-128	NED-ATCAGGAGACAATCCAGCAG	gtTCCAGCCATTCAAGACAAAGG
MID-15	NED-GGGTTATTTGCCTCATCTCC	gtttctAGGTATTCTCTGTTCCCACG
MID-2241	NED-ACATACACGTGGAAGACTGC	gttACTGTGCTGACTGATCCAATAG
MID-419	NED-CAGGAAAGTATGGCCCATTC	GTCCATGTTTTCTTTGAGCATC
MID-943	NED-TCTTCCTACCCCTGTTAGTG	GACAAGATCACTAGCTTGAC
MID-159	NED-ACCAGAGCACTACAGCCTTT	gCAAGGYAGTAACAATGAGGG
MID-2005	NED-TGTAGCGGCAATATAGGCAG	GAAAGTTGTGGCTTAAGTGG
MID-250	NED-ATGGAGCAGTAAAGCAGCAC	GTCACCTTTGGTTTTTGCAGG
MID-1802	NED-ACGGTCAACTTTGTAGCTCC	gCCAGTTGAGAATCACTGCAC
MID-1607	NED-TGTTGCAGAAGAACTCAACC	GATAAGCACCTAACTCCAG
MID-1734	PET-TTCGTGTTCTCACACTGTCC	GTGCATCCCATACAAGTAC
MID-406	PET-TGGCTGCTGTAGATTGTAGG	gACAAATGGACAACGGCCAAAG
MID-1386	PET-AGAGGATCATGGAGACCAAC	gtttATGTTCCAAAGTCAGCAGCAC
MID-1726	PET-GGTCCAAATGCACCACAATC	GCTCTGCTATTTTGGTTTGC

Marcador genético	Sequências dos primers marcados	Sequência dos primers não marcados
MID-3626	PET-TGTTGGTTCTCTCCTTTTCC	GGTGACCCCTTCTTTATCTC
MID-360	PET-AGATCAACTGCCAATCTGGG	CTCAAGTGACCAACCCACCT
MID-1603	PET-TTACAATTTCAAGCCTCCGC	gGGAGCTGTTAGTCTGAGTAG
MID-2719	PET-GTCAGGAGTCTAGAACTTC	GGGTGATGAAATGTTCCGAA

As condições de amplificação foram as seguintes: QIAGEN multiplex PCR kit 1x, primers a 0,1 μ M, exceto para os marcadores MID-196, MID-881, MID-384, MID-1734, MID-3326, MID-2719, MID-772 que foram utilizados a 0,2 μ M, 0,5-5 ng de DNA genómico num volume final de reacção de 10 μ l. As reacções de todas as amostras em estudo foram realizadas em termocicladores GeneAmp 2720 (Applied Biosystems) de acordo com as condições descritas na tabela 3.

Apenas para um conjunto particular de amostras para as quais não se obteve boa amplificação numa primeira tentativa, as condições de PCR foram alteradas no sentido de aumentar o sucesso de amplificação, quer ajustando a quantidade de amostra, reforçando a quantidade de primer para 1.5x ou aumentando o número de ciclos para 32.

Tabela 3 - Parâmetros dos ciclos térmicos utilizados no sistema PCR.

Passo do protocolo		Temperatura	Tempo de incubação
Incubação inicial		95°C	15 min
30 ciclos	Desnaturação	94 °C	30 seg
	Hibridação	60 °C	90 seg
	Extensão	72 °C	45 seg
Extensão final		72 °C	60 min
		12 °C	∞

Na amplificação do material genético deve-se destacar a importância da inclusão de controlos negativos e controlos positivos para verificar a existência de problemas na reacção. Desta forma, em cada conjunto de reacções de amplificação de amostras das Filipinas foi feito um controlo negativo e um controlo positivo utilizando a amostra de referência 2800M de genótipo conhecido, na concentração de 1ng/ μ l.

2.2.2. Genotipagem

Os produtos resultantes da reacção de PCR foram separados e detetados pela técnica de eletroforese capilar num sequenciador automático 3130/3130 XL Genetic Analyser (Applied Biosystems), em condições desnaturantes e utilizando polímero POP7

(Applied Biosystems). A preparação das amostras para a eletroforese capilar foi feita pela adição de 1 μ l do amplificado a 10 μ l de uma mistura composta por 1000 μ l de formamida desionizada 95% (HI-DI Formamide, Applied Biosystems) e 30 μ l de padrão interno GeneScan™ Liz 500 Size Standard (Applied Biosystems).

A análise dos resultados foi efetuada com o *software* GeneMapper v4.0 e os alelos foram tipados por comparação com bins alélicos adicionados ao *software*, facilitando a genotipagem de um grande conjunto de amostras.

2.3. Análise de dados

Após a obtenção dos perfis genéticos para as 381 amostras das três principais regiões das Filipinas procedeu-se a uma análise dos dados obtidos, em diferentes níveis e empregando diferentes ferramentas.

Os parâmetros de diversidade genética como as frequências alélicas, heterozigotias observada e esperada, teste exato de Hardy-Weinberg, distâncias genéticas F_{ST} e teste de *Linkage Disequilibrium* (LD) entre pares de marcadores foram calculados através do *software* Arlequin v3.5.2.2. Também a análise de variância molecular (AMOVA) que permite estimar a distribuição das proporções de variação genética observadas entre grupos, entre populações dentro de grupos, e dentro das populações, foi estimada com este programa. Para esta análise, foram testados diferentes estratégias de agrupamento, nomeadamente considerando critérios geográficos.

Para testar a estrutura das populações e estimar proporções de ancestralidade foi utilizado o *software* STRUCTURE v2.3.4. Este programa consiste num método Bayesiano de agrupamento ou *clustering* genético baseado em diferentes modelos, em que é assumida a existência de K *clusters* ou populações, sendo os indivíduos agrupados com base no seu genótipo, e considerando que cada população é caracterizada por um conjunto de frequências alélicas ancestrais em cada locus (Pritchard *et al.* 2000). Neste estudo, foram realizados essencialmente três projetos de análise onde se aplicou o modelo *default* “*Admixture model*” e considerou as frequências alélicas correlacionadas, variando apenas pontualmente outros parâmetros, nomeadamente nas análises em que se utilizaram dados genotípicos de amostras de referência, onde se fez uso da opção POPFLAG=1 para estas amostras e POPFLAG=0 para as restantes. Para cada corrida foram aplicados 100000 passos de burn-in seguidos de 100000 interações de Markov Chain Monte Carlo (MCMC), e foram feitas 3 réplicas para cada parâmetro de análise considerado. O primeiro projeto foi realizado para avaliar a subestrutura da população Filipina, tendo-se inserido dados genotípicos apenas referentes às suas três grandes regiões (Luzon, Visayas e Mindanao) e testado valores de $K=1$ até $K=4$. Num segundo projeto, aos dados genéticos das Filipinas foram adicionados dados das amostras de referência do painel HGDP-CEPH com vista a investigar a estrutura das populações a nível global e averiguar a afinidade genética da nossa população em estudo. Neste projeto testaram-se agrupamentos de $K=1$ até $K=8$, sem e com a opção POPFLAG ativa para as amostras de referência. Um último projeto consistiu numa análise de subestrutura mais microgeográfica ao nível da região onde se insere o arquipélago Filipino, em que se utilizaram dados referentes a 18

subpopulações Este Asiáticas representadas no painel HGDP-CEPH e de Taiwan (pereira et al 2012).

A representação gráfica dos resultados obtidos no programa STRUCTURE foi realizada de forma simples através do *software* Clumpak (Kopelman *et al.* 2015) que permitiu obter gráficos de barras das estimativas de ancestralidade individual tendo em consideração as diferentes réplicas realizadas em cada parâmetro de análise. Paralelamente, através do programa STRUCTURE HARVESTER v0.6 (Earl & vonHoldt 2012) obtiveram-se gráficos dos valores de probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) nas diferentes análises, permitindo uma melhor interpretação do número de *clusters* que melhor se ajusta ao conjunto de dados genéticos em estudo.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada por meio de uma funcionalidade implementada na plataforma online “Snipper App suite” v2.0 (<http://mathgene.usc.es/snipper/>) dedicada à classificação de indivíduos através de AIMS bialélicos.

3. Resultados e Discussão

3.1. Diversidade genética e subestrutura populacional nas Filipinas

No presente estudo, um painel de 46 AIM-INDELs foi utilizado para caracterizar geneticamente a população das Filipinas. No geral, as amplificações em multiplex dos 46 marcadores foram realizadas com sucesso em 381 amostras, exceto um pequeno grupo de amostras com má amplificação em condições standard que implicou ajustes pontuais no protocolo de amplificação. Em suma, o sistema multiplex permitiu a genotipagem de um grande número de amostras de uma forma rápida e eficaz.

Cumprida a caracterização dos 46 AIM-INDELs nas amostras populacionais referentes às três regiões das Filipinas (Luzon, Visayas e Mindanao), fez-se uma cuidada análise dos dados genéticos, como se detalha em seguida.

3.1.1. Comparação entre regiões

Com base na informação genética recolhida foi-se investigar a estrutura do arquipélago Filipino e inferir padrões de variação entre os três grandes grupos regionais através da análise de distâncias genéticas, teste exato de diferenciação e análise em *clusters*, de forma a estabelecer o grau de heterogeneidade existente entre Luzon, Visayas e Mindanao.

3.1.1.1. Análise de distâncias genéticas

As distâncias genéticas calculadas entre as regiões de Luzon, Visayas e Mindanao são apresentadas na tabela 4. Os resultados mostram valores de F_{ST} baixos e estatisticamente não significativos ($p \geq 0,52252$), indicando homogeneidade entre o pool genético das três regiões.

Tabela 4 - Distâncias genéticas (F_{ST}) calculadas entre as regiões Filipinas de Luzon, Visayas e Mindanao (abaixo da diagonal) e respectivos valores de p (acima da diagonal).

	Luzon	Visayas	Mindanao
Luzon	*	0,52252	0,61261
Visayas	-0,00015	*	0,56757
Mindanao	-0,00071	-0,00182	*

Em complementaridade, uma Análise de Variância Molecular (AMOVA) foi realizada para analisar a distribuição da variabilidade genética na população Filipina, de forma a tornar os resultados mais consistentes (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise de variância molecular (AMOVA) entre as regiões Filipinas de Luzon, Visayas e Mindanao.

Fonte de variação	Percentagem de variação (%)	Valor de p
Entre populações	-0,03	0.60215
Dentro das populações	100,03	*

A análise indica que a variação genética existente no arquipélago se deve na sua totalidade a diferenças entre indivíduos da mesma população (100%), e não a variações entre as regiões de Luzon, Visayas e Mindanao. Estes resultados corroboram os obtidos na análise anterior, evidenciando uma clara homogeneidade na população Filipina.

3.1.1.2. Teste exacto de diferenciação

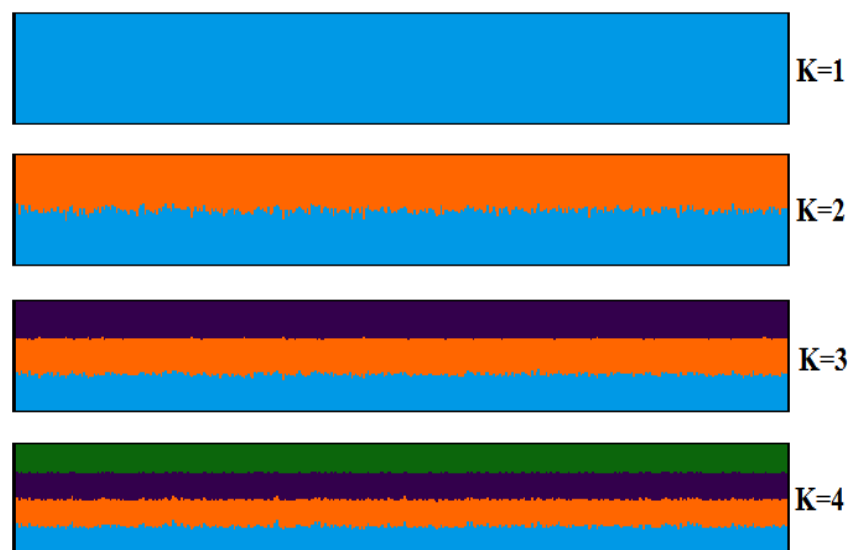
Os testes exatos de diferenciação par a par entre as regiões de Luzon, Visayas e Mindanao e o teste global de diferenciação corroboram uma não diferenciação da população das Filipinas ($p \geq 0,29180$ e $p = 0,26080$, respetivamente), em linha com os resultados da análise de distâncias genéticas.

3.1.1.3. Análise em *clusters*

Apesar das Filipinas serem caracterizadas por possuírem uma ampla diversidade cultural e étnica, a sua população foi definida como sendo homogênea através das análises anteriores. No entanto, realizou-se adicionalmente uma análise da estrutura populacional das Filipinas com o *software* STRUCTURE forçando um teste de até quatro hipotéticos *clusters* populacionais presentes no conjunto dos dados ($K=1$ a $K=4$).

Os resultados obtidos para o painel de 46 AIM-INDELs nas subpopulações regionais das Filipinas são apresentados na Figura 3. Quando analisadas as regiões de Luzon, Visayas e Mindanao com o *software* STRUCTURE não se observa qualquer variação das proporções de ancestralidade entre os indivíduos. Como esperado, a população Filipina não apresenta uma subestrutura real, uma vez que cada indivíduo apresenta aproximadamente as mesmas proporções para cada as K populações assumidas, havendo uma distribuição homogênea pelos *clusters*.

A)



B)

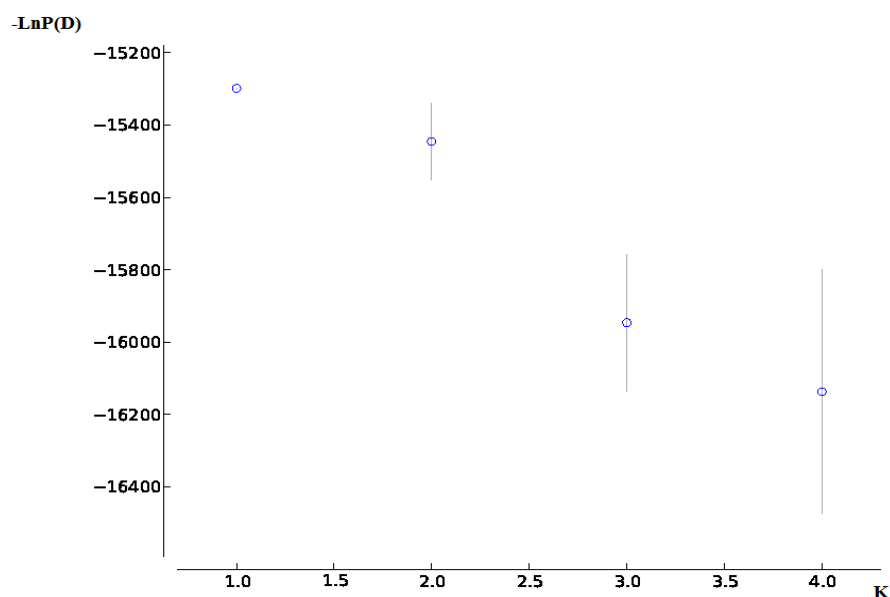


Fig. 3 - Subestrutura intrapopulacional do arquipélago das Filipinas (regiões de Luzon, Visayas e Mindanao) usando o painel de 46 AIM-INDELs (A); Probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B).

Na figura 3B é possível verificar que não há uma melhoria dos valores da probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) com o aumento do número de *clusters* admitidos, indicando que o valor de K que melhor caracteriza a população é K=1. Assim, os três grandes grupos regionais Filipinos não revelam subestruturação usando o painel de 46 AIM-INDELs, apontando os resultados para uma ausência de heterogeneidade ao longo do país. Desta forma, a referente análise intrapopulacional detalhada com 46 AIMS autossômicos parecem não sustentar particularmente nenhuma das teorias de povoamento aludidas da Introdução.

Em síntese, os dados obtidos até ao momento quer por análise de distâncias genéticas, AMOVA ou análise em *clusters*, apontam para uma ausência de subestruturação populacional, o que permite considerar o estabelecimento de uma base de dados genéticos única para este conjunto de marcadores na população Filipina.

3.1.2. Frequências alélicas e medidas de diversidade

Os dados genotípicos das 381 amostras estudadas na população das Filipinas para os 46 AIM-INDELs estão incluídos no Anexo 1. As frequências alélicas e as heterozigotias observadas e esperadas foram estimadas para cada marcador genético e são apresentadas nas tabelas 6. Relativamente à diversidade genética verificou-se que em geral os marcadores são polimórficos, principalmente os marcadores MID-777, MID-196, MID-659, MID-772, MID-397, MID-1734 (Tabela 6). Já o INDEL MID-1802 aparece como fixado para o alelo longo, sendo monomórfico na população. A heterozigotia observada variou entre 0,00262 (MID-3122) e 0,54331 (MID-777), enquanto que a heterozigotia esperada variou entre 0,00262 (MID-3122) e 0,50016 (MID-1734).

Tabela 6 – Frequências alélicas, heterozigotias observadas e esperadas, teste exato de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, e poder de discriminação para os 46 AIM-INDELs na população das Filipinas.

INDEL	Freq. Alelo curto	Freq. Alelo longo	Het. Obs.	Het. Esp.	Valor de p para EHW	PD
MID-1470	0,2625	0,7375	0,40420	0,38767	0,43184	0,549
MID-777	0,4685	0,5315	0,54331	0,49867	0,08173	0,624
MID-196	0,5474	0,4526	0,51579	0,49617	0,47081	0,623
MID-881	0,7745	0,2255	0,29178	0,34972	0,00205	0,516
MID-3122	0,9987	0,0013	0,00262	0,00262	1,00000	0,005
MID-548*	0,3123	0,6837	0,40945	0,43552	0,47386	0,590
MID-659	0,4484	0,5516	0,46296	0,49533	0,21590	0,622
MID-2011	0,8316	0,1684	0,30000	0,28048	0,20159	0,443
MID-2929	0,9764	0,0236	0,04199	0,04619	0,18639	0,089
MID-593	0,0013	0,9987	0,00263	0,00263	1,00000	0,005
MID-798	0,1365	0,8635	0,23622	0,23602	1,00000	0,388
MID-1193	0,2592	0,7408	0,35526	0,38455	0,14334	0,547
MID-1871	0,7744	0,2256	0,35620	0,34986	0,77128	0,516
MID-17	0,6803	0,3197	0,41842	0,43558	0,47896	0,586
MID-2538	0,0223	0,9777	0,03937	0,04368	0,16648	0,084
MID-1644	0,2934	0,7066	0,42895	0,41520	0,53788	0,571
MID-3854	0,1768	0,8232	0,28496	0,29144	0,72343	0,455
MID-2275	0,7592	0,2408	0,32368	0,36610	0,03414	0,531
MID-94	0,0682	0,9318	0,12073	0,12734	0,40183	0,230
MID-3072	0,9895	0,0105	0,02100	0,02080	1,00000	0,041
MID-772	0,5682	0,4318	0,46457	0,49133	0,29756	0,620
MID-2313	0,7711	0,2290	0,34737	0,35353	0,77050	0,519
MID-397	0,5541	0,4459	0,46438	0,49480	0,25003	0,622
MID-1636	0,9344	0,0656	0,12073	0,12278	0,67087	0,223
MID-51	0,8776	0,1224	0,21316	0,21507	0,81274	0,360
MID-2431	0,6566	0,3434	0,43947	0,45156	0,64831	0,597
MID-2264	0,0421	0,9579	0,07895	0,08077	0,49518	0,152
MID-2256	0,0342	0,9658	0,06842	0,06617	1,00000	0,126
MID-128	0,1050	0,8950	0,17848	0,18818	0,28530	0,323
MID-15	0,3158	0,6842	0,46316	0,43270	0,19343	0,584
MID-2241	0,0711	0,9290	0,13158	0,13218	1,00000	0,238
MID-419	0,1601	0,8399	0,25197	0,26930	0,24928	0,429
MID-943	0,2087	0,7913	0,35958	0,33068	0,11964	0,497
MID-159	0,0486	0,9514	0,08661	0,09252	0,21523	0,172
MID-2005	0,1570	0,8430	0,25594	0,26504	0,55897	0,424
MID-250	0,7992	0,2008	0,27559	0,32137	0,00999	0,487
MID-1802	0,0000	1,0000	Locus monomórfico		Sem informação	0,000
MID-1607	0,1168	0,8832	0,20735	0,20658	1,00000	0,349

INDEL	Freq. Alelo curto	Freq. Alelo longo	Het. Obs.	Het. Esp.	Valor de p	PD
MID-1734	0,4841	0,5159	0,50133	0,50016	1,00000	0,625
MID-406	0,9090	0,0910	0,15040	0,16570	0,10752	0,290
MID-1386	0,2493	0,7507	0,38320	0,37483	0,78349	0,538
MID-1726	0,7782	0,2218	0,32283	0,34565	0,23440	0,512
MID-3626	0,2698	0,7302	0,40741	0,39458	0,60030	0,555
MID-360	0,1483	0,8517	0,25459	0,25294	1,00000	0,409
MID-1603	0,3862	0,6138	0,49735	0,47475	0,38572	0,611
MID-2719	0,7060	0,2940	0,40945	0,41564	0,80623	0,572
					PD ac.	99,9999999999986
					RMP ac.	$2,63 \times 10^{-12}$

*Para este marcador foram observados três alelos variantes. PD ac. – Poder de Discriminação acumulado; RMP ac. – *Random Match Probability* acumulado; Freq. Alelo curto – Frequência do alelo curto; Freq. Alelo longo – Frequência do alelo longo; Het. Obs. – Heterozigotia Observada; Het. Esp. – Heterozigotia Esperada; PD – Poder de Discriminação.

Em geral, a população Filipina mostrou níveis de diversidade genética similares aos obtidos em outras populações Asiáticas já estudadas para o mesmo conjunto de marcadores (Pereira et al, 2012). No entanto, uma descoberta interessante neste estudo foi a ocorrência de novos alelos variantes no marcador MID-548 (Figura 4), nunca antes descritos na literatura ou em bases de dados como a dbSNP.

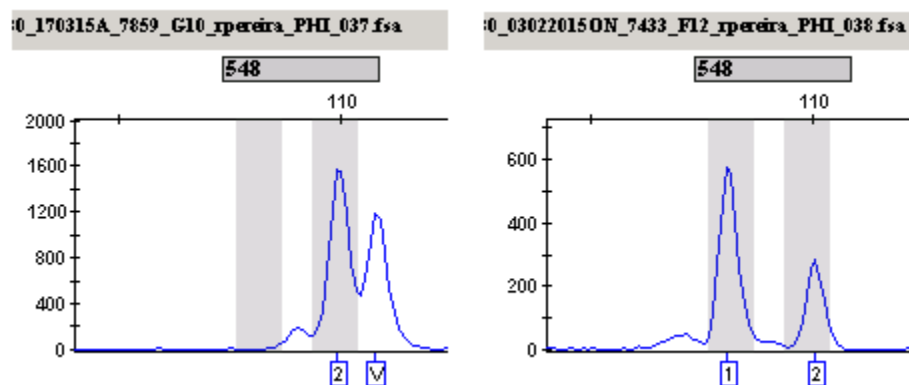


Fig. 4 - Detalhe genotípico do marcador MID-548 em duas amostras apresentando-se um heterozigótico com os dois alelos esperados (à direita) e outro evidenciando um alelo variante (V) previamente não reportado na literatura.

O alelo variante foi encontrado em três indivíduos, apresentando um tamanho com mais um bp que o alelo longo conhecido. No âmbito do projeto de Mestrado foi impossível proceder a uma análise detalhada do contexto de sequência flanqueante ao MID-548 por forma a avaliar que variante extra ocorre dentro do amplicão, conduzindo à observação de fragmentos com tamanhos diferentes dos esperados. Será necessário no futuro proceder a uma análise de sequenciação da região utilizando primers flanqueadores externos aos que foram utilizados neste ensaio de 46 AIM-INDELs.

3.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg

O teste exato de Hardy-Weinberg realizado aos dados genéticos obtidos na população Filipina não revelou desvios significativos à distribuição genotípica esperada (Tabela 6). No caso em estudo, três marcadores (MID-881, MID-2275, MID-250) apresentaram valores de $p < 0.05$ ($0,00205 < p < 0,03414$), no entanto acima do nível de significância após correção de Bonferroni para testes múltiplos ($p = 0,00108$). Estudos realizados para o mesmo painel de 46 AIM-INDELs englobando populações de todo o mundo também reportam a ausência de desvios ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Pereira *et al.* 2012).

3.3. Desequilíbrio de Ligação

A análise de Desequilíbrio de Ligação ou Associação Gamética entre marcadores é fundamental para verificar se a probabilidade de um determinado alelo surgir num locus não é influenciada pela ocorrência de um outro alelo em outro locus estudado. Nesse sentido foram realizados testes de Desequilíbrio de Ligação ou *Linkage Disequilibrium* para todos os pares de loci envolvidos neste estudo. Os resultados são apresentados detalhadamente no Anexo 2. Dos 1035 testes par a par realizados, uma proporção de 78 revelou valores de $p < 0.05$, mas apenas 13 pares de loci (Tabela 7) evidenciaram estar em associação gamética apresentando valores estatisticamente significativos após aplicação da correção de Bonferroni para testes múltiplos ($\alpha = 0.00005$).

Tabela 7 - Pares de loci em associação gamética após aplicação de Bonferroni para testes múltiplos e respectivas distâncias entre os pares de loci localizados no mesmo cromossoma.

Pares de marcadores	Localização no genoma	Valor de p	Distância entre os marcadores no cromossoma
MID-881/MID-1193	5/5	$\leq 10^{-5}$	10,07 Mb
MID-1871/MID-1644	7/1	$\leq 10^{-5}$	*
MID-1871/MID-397	7/6	$\leq 10^{-5}$	*
MID-659/MID-2431	2/8	$\leq 10^{-5}$	*
MID-593/MID-2264	6/13	$\leq 10^{-5}$	*
MID-94/MID-2256	22/22	$\leq 10^{-5}$	1,00 Mb
MID-1871/MID-15	7/2	$\leq 10^{-5}$	*
MID-397/MID-15	6/2	$\leq 10^{-5}$	*
MID-2241/MID-2005	6/10	$\leq 10^{-5}$	*
MID-196/MID-406	6/6	$\leq 10^{-5}$	85,06 Mb
MID-17/MID-3626	3/15	$\leq 10^{-5}$	*
MID-3854/MID-3626	6/15	$\leq 10^{-5}$	*

Estudos prévios realizados em diferentes populações continentais não evidenciaram associações gaméticas significativas para este painel de marcadores autossômicos, tendo sido utilizado com sucesso na inferência de ancestralidade biogeográfica e estimativa de proporções ancestrais com programas como o STRUCTURE que emprega modelos baseados em princípios de Equilíbrio de Ligação e Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Pereira et al 2012). No caso específico do nosso estudo, dos 13 pares de loci assinalados, apenas em três casos os marcadores estão localizados no mesmo cromossoma, ainda que bastante distanciados entre si

excetuando os loci MID94 e MID2256 mapeados a apenas 1Mb. Esta relativa proximidade no genoma é ainda assim maior que o tamanho genericamente reportado na literatura para blocos de LD no genoma (Reich *et al.* 2001) (~200Kb) pelo que, e atendendo também a resultados anteriores para o mesmo sistema em populações Asiáticas (Pereira *et al.* 2012), se considerou que os resultados obtidos para a população Filipina não inviabilizariam uma adequada análise dos dados com o *software* STRUCTURE.

3.4. Comparação com outras populações mundiais (painel HGDP-CEPH)

No intuito de compreender as afinidades genéticas da população das Filipinas ao nível global e perceber a sua ancestralidade genética através do estudo deste conjunto de 46 AIMs, foram realizadas análises mais abrangentes incluindo amostras do painel de diversidade HGDP-CEPH de África (n=105), Europa (n=158), Médio Oriente (n=163), Centro-Sul Ásia (n=202), Este Ásia (n=229), Oceania (n=28) e Nativo-América (n=64), que tem origem biogeográfica conhecida e documentada, podendo por isso servir como amostras de referência.

3.4.1. Análise de distâncias genéticas

Os dados obtidos com o painel de 46 AIM-INDELs nas 381 amostras das Filipinas foram usados para calcular distâncias genéticas com as amostras continentais de referência incluídas no painel HGDP-CEPH.

A análise das distâncias genéticas mostra uma grande diferenciação entre populações continentais (Tabela 8), revelando valores de F_{ST} elevados e altamente significativos ($p \leq 10^{-5}$). No geral, as maiores distâncias genéticas manifestam-se nas comparações que envolvem as populações Africanas. Por outro lado, os valores de F_{ST} mais baixos são observados nas comparações entre Europa, Médio Oriente e Centro-Sul Ásia indicando maior proximidade entre as populações.

A população das Filipinas mostra uma baixa distância genética quando comparada com as populações do Este Asiático, ainda que estatisticamente significativa, apontando para uma maior proximidade genética com as populações Este Asiáticas o que é conjecturado dada a sua localização geográfica.

Tabela 8 - Distâncias genéticas (F_{ST}) calculadas entre os sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH (AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania) e a população das Filipinas (abaixo da diagonal) e respectivos valores de p (acima da diagonal).

	AFR	EUR	ME	CSA	EAS	Filipinas	OCE	NAM
AFR	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
EUR	0,36515	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
ME	0,28955	0,01485	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
CSA	0,28922	0,03533	0,02735	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
EAS	0,39289	0,28406	0,25193	0,18104	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
Filipinas	0,41028	0,29393	0,26648	0,19008	0,02316	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
OCE	0,37447	0,2252	0,1742	0,16655	0,2248	0,23407	*	$\leq 10^{-5}$
NAM	0,44273	0,29768	0,26519	0,19707	0,2199	0,24832	0,30981	*

AFR – África; EUR – Europa; ME – Médio Oriente; CSA – Centro-Sul Ásia; EAS – Este Ásia; OCE – Oceania; NAM – Nativo-América.

A matriz de distâncias genéticas par a par foi representada através de um MDS (Figura 5) proporcionando um panorama mais amplo das afinidades genéticas para estes marcadores a nível mundial.

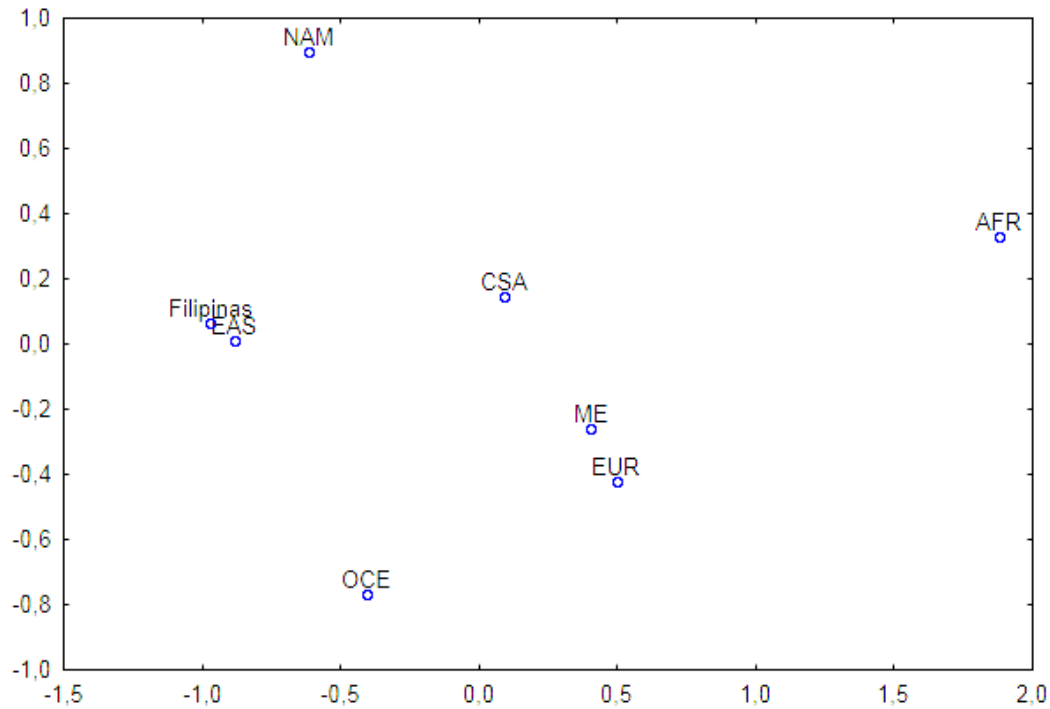


Fig. 5 - Multidimensional scaling (MDS) de uma matriz de distâncias genéticas F_{ST} calculadas par a par entre sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH (AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania) e a população das Filipinas.

Os sete grupos populacionais do painel HGDP-CEPH e a nossa população em estudo encontram-se representativamente bem separados e distinguíveis. Como já mencionado anteriormente, confirma-se que as populações do Médio Oriente são mais próximas das populações Europeias do que das populações do Centro-Sul Ásia, que por sua vez já comportam alguma afinidade com as populações Este Asiáticas.

A figura 5 ilustra que a menor distância genética existente entre todas as populações em análise envolve a população das Filipinas e as populações HGDP-CEPH Este Asiáticas, demonstrando uma grande proximidade genética.

3.4.2. Análise de Variância Molecular (AMOVA)

Na continuidade da análise anterior, a distribuição da variabilidade genética nos sete grupos do painel HGDP-CEPH e na população das Filipinas foi estudada por AMOVA (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise de variância molecular (AMOVA) ao nível global incluindo a população das Filipinas.

Fonte de variação	Percentagem de variação (%)	Valor de p
Entre grupos	25,17	0.00293
Entre populações dentro dos grupos	1,98	$\leq 10^{-5}$
Dentro das populações	72,85	$\leq 10^{-5}$

A análise de variâncias foi realizada considerando diferentes agrupamentos das oito populações de acordo com os resultados obtidos na análise das distâncias genéticas par a par e em estudos anteriores com este painel de marcadores (santos et al 2015). O primeiro grupo foi constituído pelas populações africanas; o segundo grupo englobou as populações da Eurásia (i.e. Europa, Médio Oriente e Centro-Sul Ásia); o terceiro grupo foi formado pelas populações do Este Asiático onde se insere a nossa população em estudo; e finalmente os restantes dois grupos foram formados pelas populações continentais da Oceania e América.

Quando se consideram todos os AIM-INDELs, a proporção de variação genética devida a diferenças entre grupos é de 25,17%. No geral, a maior variabilidade existente é devida a diferenças dentro das populações (72,85%) e apenas uma baixa percentagem de variação (1,98%) se deve a diferenças entre as populações dentro dos grupos formados, sustentando a estratégia de agrupamentos seguida.

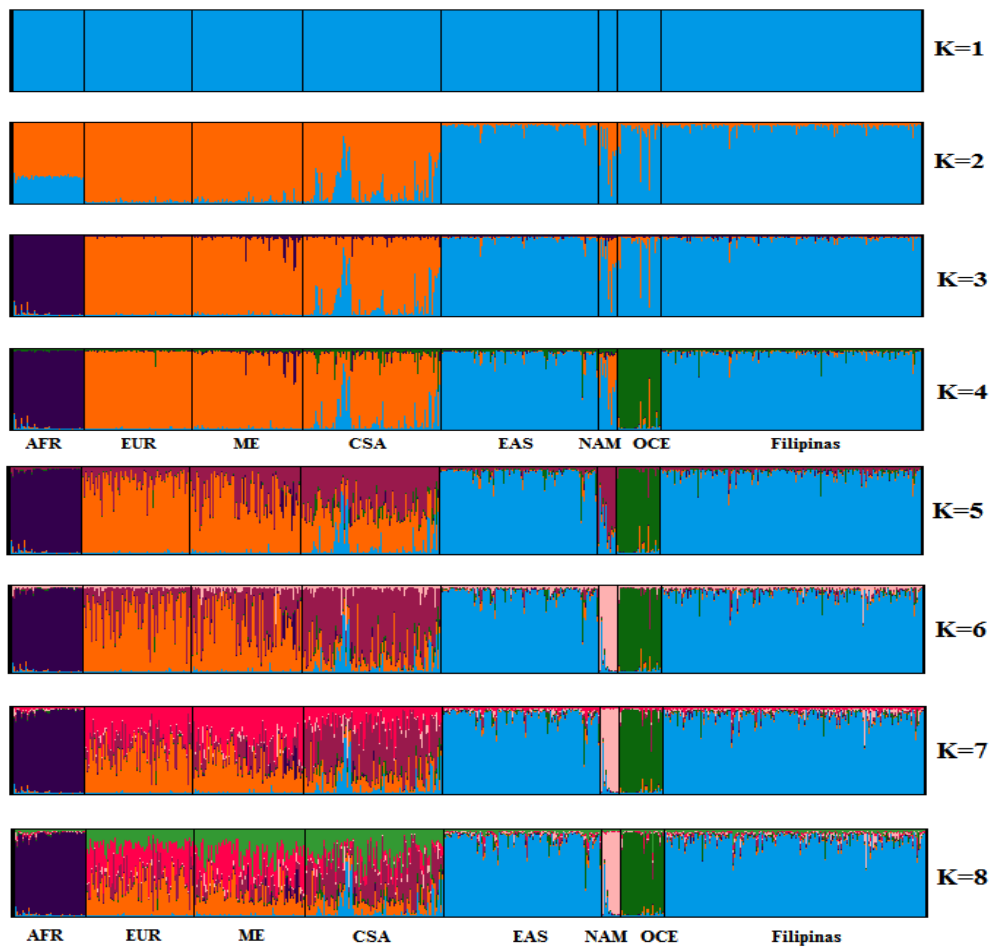
3.4.3. Análise em *clusters*

A análise da subestrutura populacional foi realizada utilizando os dados genotípicos gerados no presente estudo, bem como dados das amostras de referência do painel de diversidade HGDP-CEPH. Os resultados obtidos com o *software* STRUCTURE estão representados na figura 6.

O painel de 46 AIM-INDELs foi concebido primeiramente para uma diferenciação intercontinental de quatro grupos populacionais (AFR, EUR, EAS, NAM), tendo no entanto evidenciado capacidade para diferenciar também populações da Oceania (Pereira *et al.* 2012). Portanto, nesta análise global já era expectável que este conjunto de marcadores discriminasse com sucesso os cinco grandes grupos continentais. Posteriormente, houve interesse em investigar se o painel de 46 AIM-INDELs era capaz de subestruturar populações a um nível biogeográfico mais amplo. Santos *et al.* (2015) estendeu o estudo a amostras de referência do painel HGDP-CEPH de populações do Médio Oriente e Centro-Sul Ásia, sugerindo que, neste contexto, K=6 é o que melhor caracteriza a subestrutura do conjunto de dados, aparecendo um novo *cluster* correspondente *grossa modo* às populações do Centro-Sul Ásia.

Quando analisamos a população das Filipinas a um nível mundial englobando o painel HGDP-CEPH os resultados indicam que a estrutura do conjunto de dados é melhor explicada pela existência de 6 clusters (K=6) (Figura 6B), tal como o estudo realizado por Santos *et al.* (2015). Relativamente à população das Filipinas verifica-se que tem uma componente ancestral essencialmente Asiática (91%), o que corrobora todas as análises anteriores e é consistente com a sua localização geográfica e formação histórica.

A)



B)

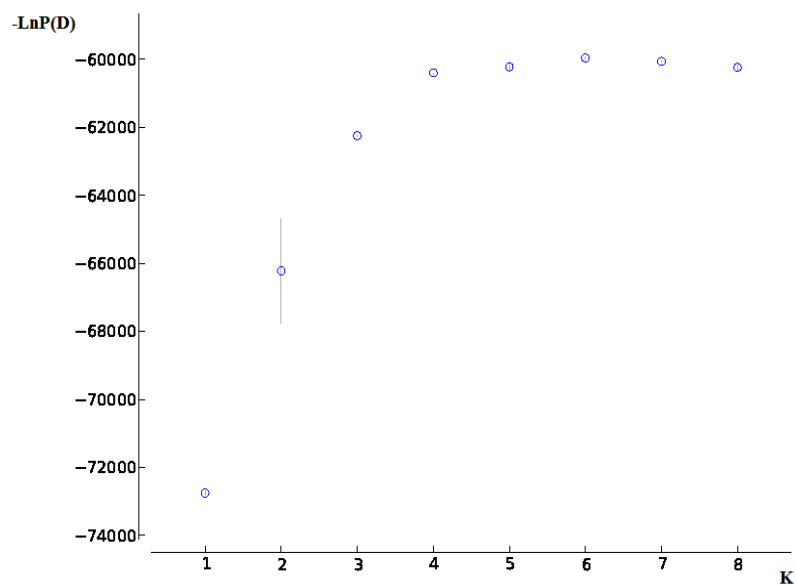


Figura 6 - Análise da subestrutura populacional mundial através do *software* STRUCTURE incluindo dados genotípicos de sete grupos populacionais do painel de diversidade HGDP-CEPH (AFR-África; EUR-Europa; ME-Médio Oriente; CSA-Centro-Sul Ásia; EAS-Este Ásia; NAM-Nativo-América; OCE-Oceania) e da população Filipina (A); Probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B).

Este estudo mostrou que a inferência de ancestralidade biogeográfica utilizando amostras mundiais, e especificamente amostras das Filipinas, é bastante eficiente com um número relativamente pequeno de 46 AIM-INDELs, mesmo sem qualquer informação *a priori* sobre a sua origem.

3.4.4. Análise de componentes principais (PCA)

De forma a ter uma visão geral do relacionamento do pool genético Filipino num contexto mundial, através de uma ferramenta alternativa, não Bayesiana, procedeu-se a uma Análise de Componentes Principais (PCA) no conjunto de dados (Figura 7). Os resultados mostram uma separação espacial formando vários agrupamentos relativamente individualizados pertencentes aos grandes grupos continentais de África, Europa, Este Ásia, América e Oceania do painel HGDP-CEPH e à população das Filipinas. Dependendo do contexto histórico da população em estudo, existem diferentes contribuidores ancestrais principais para a formação das características genéticas da região (Pereira *et al.* 2012). Os resultados do PCA mostram uma sobreposição evidente entre a população Filipina (Preto) e as outras populações Este Asiáticas estudadas, indicando uma grande proximidade genética entre elas.

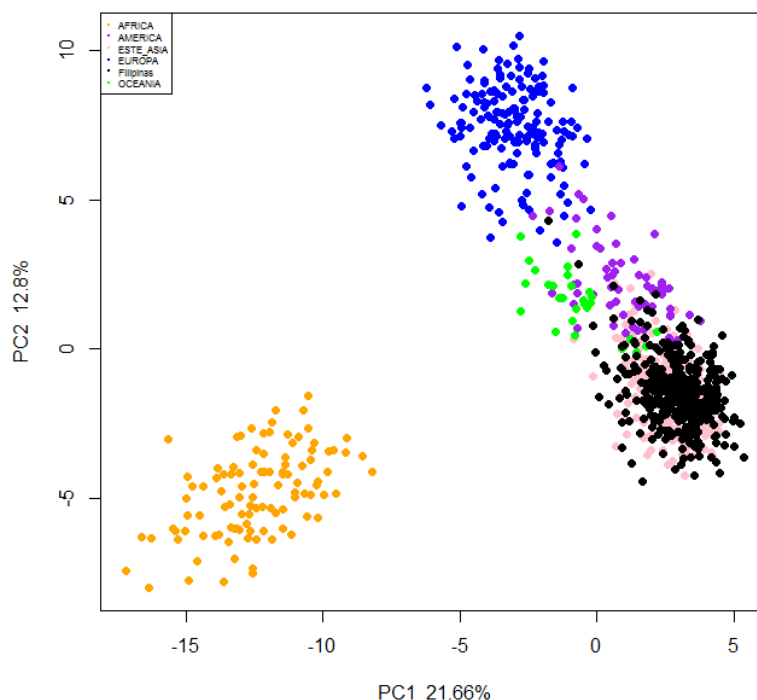


Fig. 7 - Análise dos Componentes Principais (PCA) entre as populações de cinco grupos continentais do painel de diversidade HGDP-CEPH (África; Europa; Este Ásia; Nativo-América e Oceania) e a população das Filipinas.

3.5. As Filipinas no contexto Este Asiático

Após uma análise intercontinental detalhada, provou-se que a população Filipina apresenta uma grande proximidade genética com as populações do Este da Ásia. Desta forma, achamos pertinente uma análise mais pormenorizada da população das Filipinas ao nível intracontinental, de modo a aferir como a população em estudo e as populações do Este Asiático se comportam quando comparadas, determinando o grau de heterogeneidade existente entre elas. Assim, no sentido de aprofundar este estudo, as amostras das Filipinas foram analisadas em conjunto com 18 subpopulações Este Asiáticas do painel HGDP-CEPH (Han (n=34); Han-Nchina (n=10); Dai (n=10); Daur (n=9); Hezhen (n=9); Lahu (n=8); Miao (n=10); Oroqen (n=9); She (n=10); Tujia (n=10); Tu (n=10); Xibo (n=9); Yi (n=10); Mongola (n=10); Naxi (n=7); Cambodian (n=10); Japonese (n=29) e Yakut (n=25)) e com amostras da população de Taiwan (n=48) (Pereira *et al.* 2012).

3.5.1. Análise de distâncias genéticas

O cálculo das distâncias genéticas foi realizado entre todos os pares de populações em estudo por meio de F_{ST} (Tabela 10). Analisando os resultados, verifica-se que a população das Filipinas apresenta uma menor distância genética com a população de Taiwan (0,00025; $p=0.47748$), como seria provável tendo em conta a história e o povoamento do arquipélago Filipino. Por outro lado, a maior diferenciação verifica-se com os Yakut, uma população localizada no leste da Sibéria, e portanto a geograficamente mais afastada. No geral, as distâncias F_{ST} foram baixas e não significativas. Contudo, em alguns casos particulares envolvendo essencialmente as populações Yakut, Daur e Lahu, os valores foram mais elevados e estatisticamente significativos. Assim, é evidente alguma heterogeneidade intracontinental na Este Ásia, embora bastante menor que a heterogeneidade evidenciada entre populações continentais.

A matriz de distâncias genéticas par a par está representada através de um MDS (Figura 8) conferindo a existência de alguma diferenciação entre as populações em análise para os 46 marcadores a um nível intracontinental.

Tabela 10 - Distâncias genéticas (F_{ST}) par a par calculadas entre as 18 subpopulações HGDP-CEPH do Este da Ásia (Han; Han-NChina; Dai; Daur; Hezhen; Lahu; Miao; Oroqen; She; Tujia; Tu; Xibo; Yi; Mongola; Naxi; Cambodian; Japonese e Yakut), Taiwan e Filipinas.

	Han	Han-NChina	Dai	Daur	Hezhen	Lahu	Miao	Oroqen	She	Tujia	Tu	Xibo	Yi	Mongola	Naxi	Cambodian	Japanese	Yakut	Taiwan	Filipinas
Han	*	0,38739	0,34234	$\leq 10^{-5}$	0,04505	$\leq 10^{-5}$	0,18018	0,04505	0,11712	0,81982	0,18018	0,28829	0,66667	0,11712	0,14414	0,01802	0,02703	$\leq 10^{-5}$	0,99099	$\leq 10^{-5}$
Han-NChina	0,00349	*	0,31532	$\leq 10^{-5}$	0,21622	$\leq 10^{-5}$	0,16216	0,03604	0,09009	0,51351	0,31532	0,74775	0,81081	0,54054	0,24324	0,01802	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,46847	$\leq 10^{-5}$
Dai	0,00603	0,01074	*	$\leq 10^{-5}$	0,09009	0,05405	0,12613	0,00901	0,13514	0,41441	0,18919	0,70270	0,63964	0,54955	0,03604	0,16216	0,14414	$\leq 10^{-5}$	0,99099	$\leq 10^{-5}$
Daur	0,06016	0,04652	0,05707	*	0,02703	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,08108	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,34234	0,16216	0,00901	0,11712	0,01802	0,00901	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
Hezhen	0,01672	0,01428	0,02100	0,03217	*	$\leq 10^{-5}$	0,74775	0,11712	0,02703	0,10811	0,64865	0,90991	0,68468	0,63964	0,01802	0,00901	0,05405	0,00901	0,19820	$\leq 10^{-5}$
Lahu	0,05837	0,05789	0,03047	0,05161	0,05903	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,02703	$\leq 10^{-5}$	0,00901	0,00901	$\leq 10^{-5}$	0,00901	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,01802	$\leq 10^{-5}$
Miao	0,00821	0,01417	0,01836	0,03676	-0,01106	0,03904	*	0,02703	0,09910	0,79279	0,79279	0,18018	0,81081	0,23423	0,22523	0,07207	0,06306	$\leq 10^{-5}$	0,75676	$\leq 10^{-5}$
Oroqen	0,02128	0,02738	0,03614	0,01606	0,01416	0,03664	0,02050	*	$\leq 10^{-5}$	0,42342	0,46847	0,17117	0,19820	0,46847	0,21622	0,02703	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,44144	$\leq 10^{-5}$
She	0,01011	0,01332	0,01234	0,07448	0,02531	0,06904	0,01462	0,03382	*	0,26126	0,04505	0,25225	0,04505	0,09009	0,05405	0,05405	0,01802	$\leq 10^{-5}$	0,72973	0,02703
Tujia	-0,00550	0,00017	0,00146	0,05073	0,02179	0,03916	-0,01087	-0,00019	0,00200	*	0,62162	0,20721	0,81982	0,30631	0,66667	0,17117	0,51351	$\leq 10^{-5}$	0,99099	0,22523
Tu	0,00854	0,00727	0,01273	0,00165	-0,00668	0,02412	-0,01132	-0,00213	0,01933	-0,00669	*	0,57658	0,59459	0,60360	0,70270	0,28829	0,01802	0,00901	0,95495	0,01802
Xibo	0,00598	-0,00911	-0,00743	0,01037	-0,01823	0,04089	0,01027	0,00811	0,00774	0,01057	-0,00507	*	0,66667	0,91892	0,08108	0,04505	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$	0,63964	$\leq 10^{-5}$
Yi	-0,00088	-0,01126	-0,00065	0,04749	-0,00463	0,04315	-0,00776	0,01085	0,01967	-0,00698	-0,00346	-0,00557	*	0,49550	0,48649	0,03604	0,07207	$\leq 10^{-5}$	0,90090	$\leq 10^{-5}$
Mongola	0,00854	-0,00301	-0,00108	0,01600	-0,00626	0,03493	0,00739	-0,00544	0,01556	0,00665	-0,00557	-0,01669	0,00153	*	0,20721	0,06306	0,00901	$\leq 10^{-5}$	0,90090	$\leq 10^{-5}$
Naxi	0,01434	0,01780	0,03400	0,04179	0,02788	0,03605	0,00563	0,00751	0,01622	-0,00869	-0,01154	0,01947	0,00188	0,01164	*	0,56757	0,02703	$\leq 10^{-5}$	0,51351	0,01802
Cambodian	0,01940	0,02837	0,01618	0,03329	0,03349	0,02510	0,01426	0,01773	0,01169	0,01123	0,00460	0,01261	0,02564	0,01812	-0,00340	*	0,00901	$\leq 10^{-5}$	0,21622	$\leq 10^{-5}$
Japanese	0,00747	0,02616	0,01134	0,08843	0,01949	0,05226	0,01459	0,02702	0,01596	-0,00214	0,02033	0,02920	0,01155	0,02086	0,02235	0,02308	*	$\leq 10^{-5}$	0,99099	$\leq 10^{-5}$
Yakut	0,07340	0,05812	0,05995	0,02869	0,02524	0,05338	0,03744	0,03715	0,09927	0,05988	0,01760	0,04004	0,04360	0,02363	0,03452	0,05968	0,08137	*	$\leq 10^{-5}$	$\leq 10^{-5}$
Taiwan	-0,01904	0,00024	-0,01917	0,04325	0,00617	0,01946	-0,00682	0,00168	-0,00662	-0,03436	-0,01479	-0,00366	-0,00966	-0,00960	0,00154	0,00464	-0,00999	0,06451	*	0,47748
Filipinas	0,01833	0,02890	0,02531	0,07011	0,04320	0,05580	0,03159	0,03133	0,00990	0,00558	0,02287	0,03347	0,03553	0,03152	0,02036	0,02044	0,01798	0,09450	0,00025	*

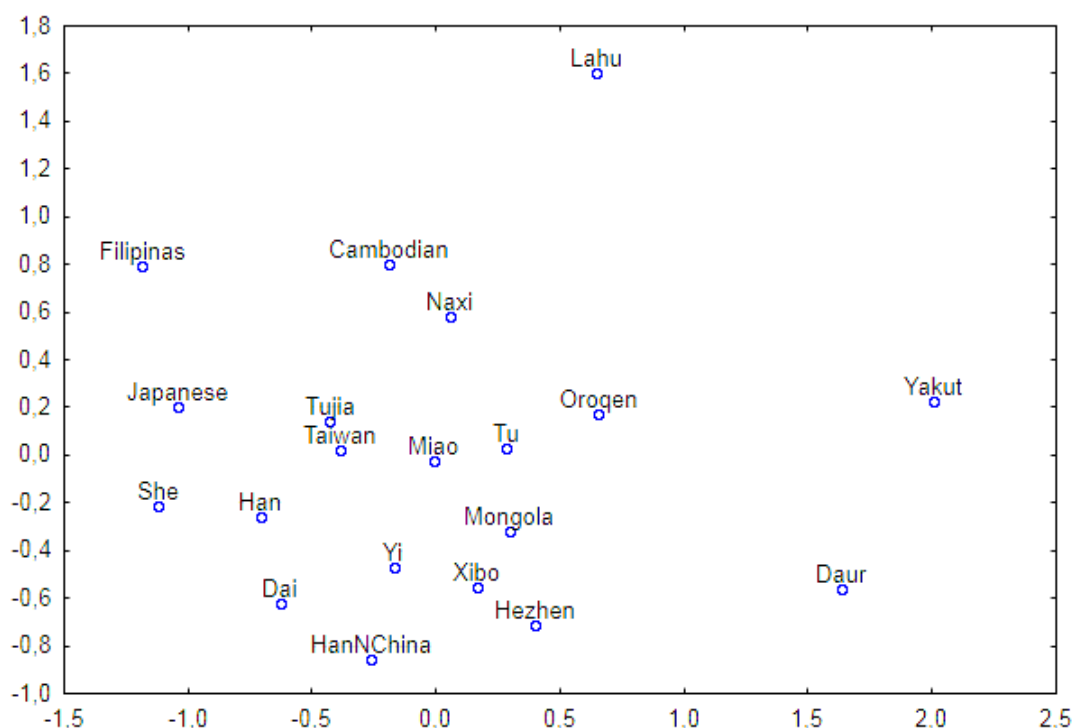


Fig. 8 - MDS da matriz de distâncias genéticas F_{ST} calculada par a par entre 18 subpopulações do Este Ásia do painel de diversidade HGDP-CEPH, Taiwan e Filipinas.

3.5.2. Análise de Variância Molecular (AMOVA)

Na continuidade da análise anterior, foi realizada uma AMOVA a fim de investigar as partições da variação genética a nível intracontinental (Tabela 11).

Tabela 11 - Análise de variância molecular (AMOVA) a nível intracontinental Este-Asiático.

Fonte de variação	Percentagem de variação (%)	Valor de p
Entre populações dentro dos grupos	2,67	$\leq 10^{-5}$
Dentro das populações	97,33	-

Os resultados mostram que a quase totalidade da variação se deve a diferenças entre indivíduos dentro das populações (97,33%), e apenas uma fração de 2,67% é devida a diferenças entre populações. Tratando-se de uma análise intracontinental envolvendo populações que se distribuem numa área geográfica bastante alargada estes resultados seriam expectáveis.

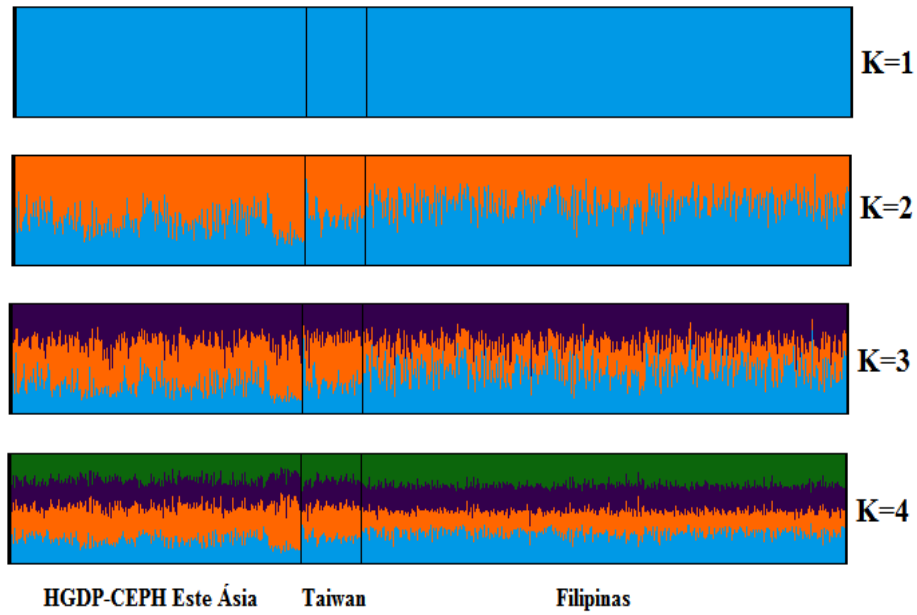
De qualquer modo a heterogeneidade observada nas análises anteriores deve ser interpretada com precaução uma vez o efetivo populacional de algumas populações

incluídas nas análises é manifestamente baixo, mesmo considerando a natureza essencialmente binária dos marcadores utilizados. Com efeito, não pode ser descurada a hipótese de que alguma da heterogeneidade detetada quer na análise de distâncias genéticas par a par quer na AMOVA seja em parte resultado de uma certa “deriva amostral” em consequência da divisão das amostras Este Asiáticas em pequenas subpopulações.

3.5.3. Análise em *clusters*

A fim de investigar em detalhe a subestrutura genética do Este da Ásia efetuou-se uma análise de *clustering* utilizando o *software* STRUCTURE apenas com estas amostras. Os resultados (Figura 9) são consistentes com a análise de distâncias genéticas, sendo perceptível alguma diferenciação inter-individual em virtude de uma distribuição das proporções não tão homogénea como aconteceu entre as regiões das Filipinas. Contudo, esta heterogeneidade não parece ser suficiente para permitir inferir uma subestrutura real entre as populações com formação de distintos *clusters*, apesar de observada uma melhoria muito ligeira do valor de $-\ln P(D)$ para $K=2$ (Figura 9B) (Pritchard *et al.* 2010). Para permitir uma análise mais completa e fidedigna da subestrutura intracontinental Este Asiática seria necessária a existência de mais estudos populacionais que envolvam maiores e equivalentes efetivos amostrais.

A)



B)

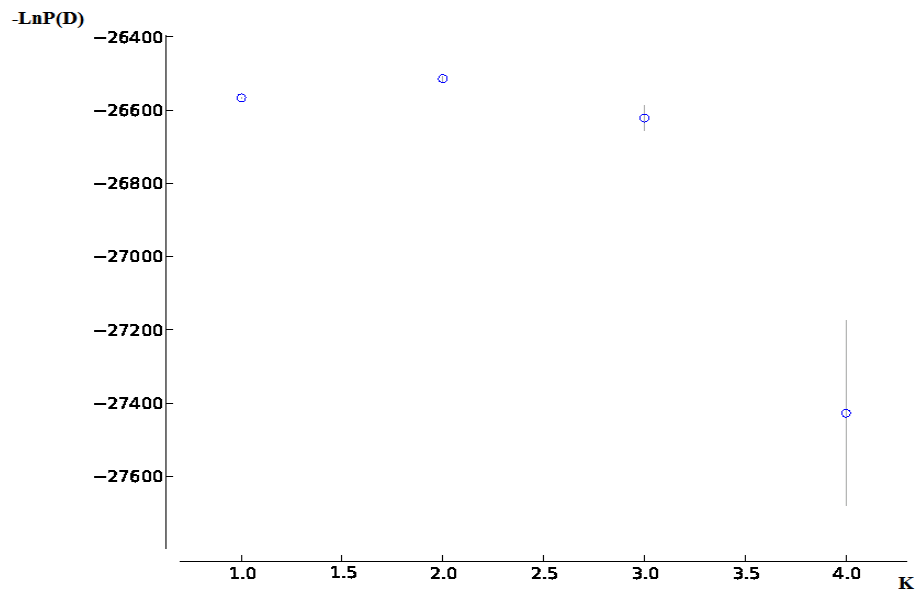


Fig. 9 - Análise da subestrutura populacional através do *software* STRUCTURE incluindo dados genotípicos de 18 subpopulações do Este da Ásia do painel de diversidade HGDP-CEPH, Taiwan e Filipinas (A); Probabilidade dos dados estimada ($-\ln P(D)$) nas análises de *clustering* realizadas para os diferentes valores de K (B).

3.6. Implicações Forenses

O painel de 46 AIM-INDELs utilizado neste trabalho foi originalmente concebido para inferir a ancestralidade biogeográfica e estimar proporções de mistura de quatro origens ancestrais (Áfricana, Europeia, Este Asiática e Nativo Americana) embora tenha revelado uma boa resolução ao nível dos cinco grandes grupos continentais humanos quando confrontado também com amostras da Oceania. Por outro lado, este ensaio foi projetado para combinar o poder informativo dos marcadores bi-alélicos como AIMS, com uma estratégia de amplificação em amplicão curto e métodos de genotipagem simples como aqueles utilizados em STRs, o que os torna ideais para estudos de ancestralidade biogeográfica, particularmente em contexto forense onde a quantidade e a qualidade das amostras por vezes é um fator limitante (Pereira *et al.* 2012, Romanini *et al.* 2015). No geral, os resultados obtidos neste projeto comprovam a eficiência do sistema como ferramenta de inferência de ancestralidade biogeográfica, tendo permitido estudar um elevado número de amostras de forma rápida e estimar proporções dos seus componentes ancestrais.

Por outro lado, apesar do 46plex de AIM-INDELs não ter sido desenhado primeiramente para fins de identificação ao privilegiar marcadores com elevada divergência entre grandes grupos populacionais em detrimento de marcadores altamente polimórficos em todos esses grupos, ainda assim permite obter valores elevados de poder de discriminação acumulado, perpetuando a sua utilização também em estudos de identificação humana. Efetivamente, dos dados genéticos recolhidos nas Filipinas é possível verificar a existência de vários marcadores com elevada diversidade na população Filipina (Tabela 6). Para ter uma ideia da eficiência forense do sistema procedeu-se ao cálculo do poder de discriminação para cada marcador e também para o seu conjunto (Tabela 6). O poder de discriminação acumulado atinge valores de 99,9999999999986%, o que permite obter níveis de informatividade adequados para a maioria das investigações forenses. A título de exemplo, os valores alcançados na população Filipina são semelhantes aos valores obtidos em populações de Este Asiáticas (Taiwan e Macau) com um sistema multiplex de INDELs desenvolvido especificamente para identificação humana, embora neste caso contendo apenas 38 marcadores (PD=99,999999999997%; RMP= 1 em $6,0 \times 10^{+13}$; Pereira *et al.* 2009). E selecionando apenas um conjunto dos 29 AIM-INDELs mais polimórficos na população Filipina, seria suficiente para obter perfis genéticos virtualmente únicos (considerando uma população mundial de 7,2 mil milhões), atingindo uma *Random Match Probability* de 1 em 10,3 mil milhões.

Com base no corpo de evidência apresentado ao longo deste trabalho pode-se confirmar que este conjunto de marcadores pode ser uma ferramenta útil em aplicações forenses, não só em estudos de inferência de ancestralidade biogeográfica, como também em contexto de identificação humana, tendo em conta a sua eficiência.

4. Conclusões

Da realização deste trabalho em que se caracterizou geneticamente a população do arquipélago das Filipinas com um conjunto de marcadores INDELs autossômicos informativos e da integração geral dos resultados obtidos é possível retirar as seguintes conclusões gerais:

- O sistema multiplex de 46 AIM-INDELs facilitou a genotipagem de um grande número de amostras (n=381) da população Filipina, possibilitando a caracterização genética das três regiões do arquipélago de uma forma rápida e efetiva em termos de tempo e custos.

- Com o estudo da subestruturação populacional das Filipinas, verificou-se a ausência de heterogeneidade entre as regiões de Luzon, Visayas e Mindanao, o que possibilitou a construção de uma base de dados única para o conjunto de 46 marcadores INDEL. Esta base de dados fica assim disponível para a comunidade científica podendo ser utilizada futuramente em outros estudos populacionais e em prática forense.

- Investigado o contexto genético das Filipinas a nível global verificou-se uma contribuição ancestral essencialmente Este Asiática, o que é consistente com a localização geográfica do arquipélago e a sua formação histórica.

- Uma análise mais detalhada da região biogeográfica Este Asiática pertiniu observar alguma heterogeneidade ao nível intercontinental, embora não suficiente para concluir sobre a existência de uma real subestruturação populacional. Do enquadramento da população Filipina é perceptível uma maior afinidade genética com a população de Taiwan.

- O painel de 46 AIM-INDELs demonstrou ser uma ferramenta adequada para investigar a origem biogeográfica e estimar proporções de ancestralidade individual e global em populações com diferentes contribuidores ancestrais. A capacidade dos marcadores inferirem a ausência de subestrutura na população Filipina e um contribuidor ancestral essencialmente Este Asiático demonstra a sua eficiência em estudos populacionais e forenses.

- O elevado valor de poder de discriminação acumulado do conjunto de 46 AIM-INDELs na população Filipina demonstra o potencial do sistema também em estudos de identificação humana.

- Com base na caracterização genética da população incluindo indivíduos naturais dos três grandes grupos regionais verificou-se que a composição genética de Luzon, Visayas e Mindanao é muito semelhante, concluindo que a população das

Filipinas é homogénea. Assim, estes resultados não parecem suportar preferencialmente algum evento migratório ou modelo de povoamento do arquipélago propostos na literatura.

- Da integração de todos os resultados obtidos neste estudo pode concluir-se que as Filipinas apresentam uma grande proximidade genética com outras populações Este Asiáticas, especialmente com a população de Taiwan. Esta evidência poderá favorecer o modelo conhecido como “Out of Taiwan” que propõe um movimento migratório no sentido norte-sul com origem na ilha de Taiwan, mas carece de suporte com base em estudos mais amplos envolvendo maiores efetivos populacionais de cada região Filipina e incluindo especificamente outras populações vizinhas do arquipélago. Por outro lado, a caracterização de marcadores autossómicos de evolução mais rápida e de marcadores uniparentais poderão ajudar a compreender melhor a história do povoamento das Filipinas e a sua variabilidade genética atual.

5. Referências Bibliográficas

- Akhteruzzaman, S., S. A. Das, I. Hosen & A. Ferdous (2013). "Genetic polymorphism of 30 InDel markers for forensic use in Bangladeshi population." Forensic Science International: Genetics Supplement Series 4(1): e348-e349.
- Amorim, A. & L. Pereira (2005). "Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: a comparative analysis with STRs." Forensic Sci Int. 150(1): 17–21.
- Campanella, N. C., G. N. Berardinelli, C. Scapulatempo-Neto, D. Viana, E. I. Palmero, R. Pereira & R. M. Reis (2014). "Optimization of a pentaplex panel for MSI analysis without control DNA in a Brazilian population: correlation with ancestry markers." Eur J Hum Genet. 22(7): 875–880.
- Campbell, M. C. & S. A. Tishkoff (2010). "The evolution of human genetic and phenotypic variation in Africa." Curr Biol 20(4): R166-173.
- da Costa Francez, P. A., E. M. Rodrigues, A. M. de Velasco & S. E. dos Santos (2012). "Insertion-deletion polymorphisms--utilization on forensic analysis." Int J Legal Med 126(4): 491-496.
- Delfin, F., A. Min-Shan Ko, M. Li, E. D. Gunnarsdottir, K. A. Tabbada, J. M. Salvador, G. C. Calacal, M. S. Sagum, F. A. Datar, S. G. Padilla, et al. (2014). "Complete mtDNA genomes of Filipino ethnolinguistic groups: a melting pot of recent and ancient lineages in the Asia-Pacific region." Eur J Hum Genet 22(2): 228-237.
- Delfin, F., J. M. Salvador, G. C. Calacal, H. B. Perdigon, K. A. Tabbada, L. P. Villamor, S. C. Halos, E. Gunnarsdottir, S. Myles, D. A. Hughes, et al. (2011). "The Y-chromosome landscape of the Philippines: extensive heterogeneity and varying genetic affinities of Negrito and non-Negrito groups." Eur J Hum Genet 19(2): 224-230.
- Duggan, A. T. & M. Stoneking (2014). "Recent developments in the genetic history of East Asia and Oceania." Curr Opin Genet Dev 29: 9-14.
- Earl, D. & B. vonHoldt (2012). "STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method." Conservation Genetics Resources 4(2): 359-361.
- Fernanda Miranda-Barros, A. G., Elizeu F. Carvalho, Antonio González-Martín, Leonor Gusmão (2015). "Y-STR haplotype background of Philippines: Comparison with other Southeast Asian populations." Forensic Science International: Genetics Supplement Series: 2.
- Fondevila, M., R. Pereira, L. Gusmão, C. Phillips, M. V. Lareu, A. Carracedo, J. M. Butler & P. M. Vallone (2011). "Forensic performance of insertion–deletion marker systems." Forensic Science International: Genetics Supplement Series 3(1): e443-e444.

- Fondevila, M., C. Phillips, C. Santos, R. Pereira, L. Gusmao, A. Carracedo, J. M. Butler, M. V. Lareu & P. M. Vallone (2012). "Forensic performance of two insertion-deletion marker assays." Int J Legal Med 126(5): 725-737.
- Furquim, G. "Pintura Rupestre." Prof. Germana Furquim
<http://germanafurquim.blogspot.pt/2014/04/pintura-rupestre.html>.
- González-Martín, A., M. Medrano, L. Regalado-Liu, S. Arroyo-Peña & A. Gorostiza Atlas Etno-histórico y Topogenético de las Islas Filipinas.
- Gross, T., D. Zaumsegel, M. Rothschild & P. Schneider (2013). "Combined analysis of two different ancestry informative assays using SNPs and Indels in Eurasian populations." Forensic Science International: Genetics Supplement Series 4(1): e25-e26.
- Halder, I., M. Shriver, M. Thomas, J. R. Fernandez & T. Frudakis (2008). "A panel of ancestry informative markers for estimating individual biogeographical ancestry and admixture from four continents: utility and applications." Hum Mutat 29(5): 648-658.
- Heyer, E., M. Georges, M. Pachner & P. Endicott (2013). "Genetic diversity of four Filipino negrito populations from Luzon: comparison of male and female effective population sizes and differential integration of immigrants into Aeta and Agta communities." Hum Biol 85(1-3): 189-208.
- Hill, C., P. Soares, M. Mormina, V. Macaulay, W. Meehan, J. Blackburn, D. Clarke, J. M. Raja, P. Ismail, D. Bulbeck, et al. (2006). "Phylogeography and ethnogenesis of aboriginal Southeast Asians." Mol Biol Evol 23(12): 2480-2491.
- Huang, J., H. Luo, W. Wei & Y. Hou (2014). "A novel method for the analysis of 20 multi-Indel polymorphisms and its forensic application." Electrophoresis 35(4): 487-493.
- Jinam, T. A., L. C. Hong, M. E. Phipps, M. Stoneking, M. Ameen, J. Edo, H. P.-A. S. Consortium & N. Saitou (2012). "Evolutionary history of continental southeast Asians: "early train" hypothesis based on genetic analysis of mitochondrial and autosomal DNA data." Mol Biol Evol 29(11): 3513-3527.
- Jobling, M., M. Hurles & C. Tyler-Smith (2013). Human evolutionary genetics: origins, peoples & disease, Garland Science.
- Kayser, M., S. Brauer, R. Cordaux, A. Casto, O. Lao, L. A. Zhivotovsky, C. Moyse-Faurie, R. B. Rutledge, W. Schiefenhoewel, D. Gil, et al. (2006). "Melanesian and Asian origins of Polynesians: mtDNA and Y chromosome gradients across the Pacific." Mol Biol Evol 23(11): 2234-2244.
- Kayser, M. & P. de Knijff (2011). "Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology." Nat Rev Genet 12(3): 179-192.

- Kersbergen, P., K. van Duijn, A. D. Kloosterman, J. T. den Dunnen, M. Kayser & P. de Knijff (2009). "Developing a set of ancestry-sensitive DNA markers reflecting continental origins of humans." BMC Genet 10: 69.
- Kopelman, N. M., J. Mayzel, M. Jakobsson, N. A. Rosenberg & I. Mayrose (2015). "Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K." Mol Ecol Resour 15(5): 1179-1191.
- Krause, J. (2009). "Ancient human migrations." Science 326: 75-86.
- LaRue, B. L., J. Ge, J. L. King & B. Budowle (2012). "A validation study of the Qiagen Investigator DIPplex(R) kit; an INDEL-based assay for human identification." Int J Legal Med 126(4): 533-540.
- LaRue, B. L., R. Lagace, C. W. Chang, A. Holt, L. Hennessy, J. Ge, J. L. King, R. Chakraborty & B. Budowle (2014). "Characterization of 114 insertion/deletion (INDEL) polymorphisms, and selection for a global INDEL panel for human identification." Leg Med (Tokyo) 16(1): 26-32.
- Meacham, W. (1988). On the Improbability of Austronesian Origins in South China. Asian Perspectives, University of Hawai'i Press (Honolulu). 26: 89-106.
- Mijares, A. S., F. Dizon, P. Piper, R. Grun, P. Bellwood, M. Aubert, G. Champion, N. Cuevas, A. De Leon & E. Dizon (2010). "New evidence for a 67,000-year-old human presence at Callao Cave, Luzon, Philippines." J Hum Evol 59(1): 123-132.
- Mills, R. E., C. T. Luttig, C. E. Larkins, A. Beauchamp, C. Tsui, W. S. Pittard & S. E. Devine (2006). "An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome." Genome Res 16(9): 1182-1190.
- Moura-Neto, R. S., R. Silva, I. C. Mello, T. Nogueira, A. A. Al-Deib, B. LaRue, J. King & B. Budowle (2015). "Evaluation of a 49 InDel Marker HID panel in two specific populations of South America and one population of Northern Africa." Int J Legal Med 129(2): 245-249.
- Mullaney, J. M., R. E. Mills, W. S. Pittard & S. E. Devine (2010). "Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes." Hum Mol Genet 19(R2): R131-136.
- Nachman, M. W. & S. L. Crowell (2000). "Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans." Genetics 156(1): 297-304.
- Oka, K., M. Asari, T. Omura, M. Yoshida, C. Maseda, D. Yajima, K. Matsubara, H. Shiono, M. Matsuda & K. Shimizu (2014). "Genotyping of 38 insertion/deletion polymorphisms for human identification using universal fluorescent PCR." Mol Cell Probes 28(1): 13-18.
- Oppenheimer, S. (2009). "The great arc of dispersal of modern humans: Africa to Australia." Quaternary International 202(1): 2-13.

- Oppenheimer, S. (2012). "Out-of-Africa, the peopling of continents and islands: tracing uniparental gene trees across the map." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 367(1590): 770-784.
- Pepinski, W., M. Abreu-Glowacka, M. Koralewska-Kordel, E. Michalak, K. Kordel, A. Niemcunowicz-Janica, M. Szeremeta & M. Konarzewska (2013). "Population genetics of 30 INDELs in populations of Poland and Taiwan." Mol Biol Rep 40(7): 4333-4338.
- Pereira, R. & L. Gusmao (2012). "Capillary electrophoresis of 38 noncoding biallelic mini-Indels for degraded samples and as complementary tool in paternity testing." Methods Mol Biol 830: 141-157.
- Pereira, R., C. Phillips, C. Alves, A. Amorim, A. Carracedo & L. Gusmao (2009). "A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms." Electrophoresis 30(21): 3682-3690.
- Pereira, R., C. Phillips, N. Pinto, C. Santos, S. E. dos Santos, A. Amorim, A. Carracedo & L. Gusmao (2012). "Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing." PLoS One 7(1): e29684.
- Phillips, C., A. Salas, J. J. Sánchez, M. Fondevila, A. Gómez-Tato, J. Alvarez-Dios, M. Calaza, M. C. de Cal, D. Ballard, M. V. Lareu, et al. (2007). "Inferring ancestral origin using a single multiplex assay of ancestry-informative marker SNPs." Forensic Sci Int Genet 1(3-4): 273–280.
- Pritchard, J. K., M. Stephens & P. Donnelly (2000). "Inference of population structure using multilocus genotype data." Genetics 155(2): 945–959.
- Pritchard, J. K., X. Wena & D. Falush (2010). Documentation for structure software: Version 2.3.
- Pugach, I., F. Delfin, E. Gunnarsdottir, M. Kayser & M. Stoneking (2013). "Genome-wide data substantiate Holocene gene flow from India to Australia." Proc Natl Acad Sci U S A 110(5): 1803-1808.
- Reich, D. E., M. Cargill, S. Bolk, J. Ireland, P. C. Sabeti, D. J. Richter, T. Lavery, R. Kouyoumjian, S. F. Farhadian, R. Ward, et al. (2001). "Linkage disequilibrium in the human genome." Nature 411(6834): 199-204.
- Romanini, C., M. Romero, M. Salado Puerto, L. Catelli, C. Phillips, R. Pereira, L. Gusmão & C. Vullo (2015). "Ancestry informative markers: inference of ancestry in aged bone samples using an autosomal AIM-Indel multiplex." Forensic Sci Int Genet. 16: 58–63.
- Rosenberg, N. A., S. Mahajan, S. Ramachandran, C. Zhao, J. K. Pritchard & M. W. Feldman (2005). "Clines, clusters, and the effect of study design on the inference of human population structure." PLoS Genet 1(6): e70.
- Saloum de Neves Manta, F., R. Pereira, R. Vianna, A. Rodolfo Beuttenmuller de Araujo, D. Leite Goes Gitai, D. Aparecida da Silva, E. de Vargas Wolfgramm, I. da Mota Pontes, J. Ivan

- Aguiar, M. Ozorio Moraes, et al. (2013). "Revisiting the genetic ancestry of Brazilians using autosomal AIM-Indels." PLoS One 8(9): e75145.
- Santos, C., M. Fondevila, D. Ballard, R. Banemann, A. M. Bento, C. Borsting, W. Branicki, F. Brisighelli, M. Burrington, T. Capal, et al. (2015). "Forensic ancestry analysis with two capillary electrophoresis ancestry informative marker (AIM) panels: Results of a collaborative EDNAP exercise." Forensic Sci Int Genet 19: 56-67.
- Santos, N. P., E. M. Ribeiro-Rodrigues, A. K. Ribeiro-Dos-Santos, R. Pereira, L. Gusmao, A. Amorim, J. F. Guerreiro, M. A. Zago, C. Matte, M. H. Hutz, et al. (2010). "Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel." Hum Mutat 31(2): 184-190.
- Scholes, C., K. Siddle, A. Ducourneau, F. Crivellaro, M. Jarve, S. Rootsi, M. Bellatti, K. Tabbada, M. Mormina, M. Reidla, et al. (2011). "Genetic diversity and evidence for population admixture in Batak Negritos from Palawan." Am J Phys Anthropol 146(1): 62-72.
- Stoneking, M. & F. Delfin (2010). "The human genetic history of East Asia: weaving a complex tapestry." Curr Biol 20(4): R188-193.
- Tabbada, K. A., J. Trejaut, J. H. Loo, Y. M. Chen, M. Lin, M. Mirazon-Lahr, T. Kivisild & M. C. De Ungria (2010). "Philippine mitochondrial DNA diversity: a populated viaduct between Taiwan and Indonesia?" Mol Biol Evol 27(1): 21-31.
- Weber, J. L., D. David, J. Heil, Y. Fan, C. Zhao & G. Marth (2002). "Human diallelic insertion/deletion polymorphisms." Am J Hum Genet 71(4): 854-862.
- Wikipédia, C. d. (24 março 2015 14h02min UTC). "Geografia das Filipinas." 41724051. Retrieved 8 de novembro de 2015, às 21h08min UTC, from https://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Geografia_das_Filipinas&oldid=41724051.
- Yang, N., H. Li, L. A. Criswell, P. K. Gregersen, M. E. Alarcon-Riquelme, R. Kittles, R. Shigeta, G. Silva, P. I. Patel, J. W. Belmont, et al. (2005). "Examination of ancestry and ethnic affiliation using highly informative diallelic DNA markers: application to diverse and admixed populations and implications for clinical epidemiology and forensic medicine." Human Genetics 118(3): 382-392.
- Zhang, F., B. Su, Y. P. Zhang & L. Jin (2007). "Genetic studies of human diversity in East Asia." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 362(1482): 987-995.

6. Anexos

Anexo 1. Genótipos das 381 amostras da população das Filipinas usando o painel 46 de AIM-INDELs.

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
1	12	12	12	12	11	11	22	22	11	22	22	22	11	11	22	12	22	12	22	11	12	12	22	12	22	12	12	12	22	12	22	12	22	22	12	11	22	12	11	12	11	22	22	12	11			
2	12	12	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	12	12	22	22	12	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	12	12	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	11	22	22	12	22	
3	22	12	11	11	11	22	11	12	11	22	12	22	12	11	22	22	22	12	22	11	12	11	22	11	11	22	22	22	12	12	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	12	11	12	12	11	12		
4	22	22	12	11	11	12	11	11	11	22	22	22	11	12	11	12	12	11	22	11	11	12	12	11	11	11	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	12	11	22	22	22	12	22	22	22	11		
5	22	11	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	12	22	22	22	12	11	22	11	12	12	11	11	11	12	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	12	11	22	22	22	12	22	11	12	22	11	12
6	22	22	11	11	11	12	11	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	11	11	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	11	12	22	22	11	
7	22	12	11	12	11	22	12	11	11	22	22	11	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	11	22	12	12	11	12	22	12	22	11	12	
8	22	22	12	12	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	11	12	11	22	11	22	11	12	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	22	12	
9	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	11	12	22	22	12	12	11	22	12	12	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	22	12	12	22	22	11	11	12	11	12	22	12	12
10	22	22	22	11	11	11	11	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	12	12	11	12	11	11	11	11	??	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	11	11	12	12	12	22	11	11
11	22	12	22	12	11	22	11	11	11	22	22	22	11	22	22	22	12	11	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	22	11	22	22	12
12	12	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	11	11	11	12	11	12	22	22	11	22	22	12	22	22	12	22	22	22	11	22	22	11	11	11	22	12	11	11
13	12	11	22	11	11	22	12	11	11	22	22	12	22	11	22	22	22	22	22	11	12	11	11	11	12	11	12	22	12	12	22	22	12	22	22	12	22	22	22	??	22	12	22	12	22	12		
14	12	12	11	12	11	22	22	11	11	22	22	12	12	12	22	22	12	11	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	12	12	12	22	22	12	
15	22	11	12	11	11	12	12	11	11	22	22	11	12	11	22	11	12	11	22	11	22	12	22	12	11	12	22	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	11	12	12	12	11
16	22	11	22	11	11	22	12	12	11	22	22	12	11	11	22	22	22	11	22	11	22	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	11	22	22	12	11
17	22	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	12	12	22	12	22	12	12	11	12	12	22	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	11	22	11	22	12	22	11
18	22	12	22	11	11	22	12	11	12	22	22	12	12	12	22	12	22	11	22	11	12	12	22	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	11	22	12	22	22	12	12	
19	22	22	22	11	11	11	12	12	11	22	22	12	11	22	22	12	12	11	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	12	22	11	22	22	11	11	12	11	12	22	12	11	
20	12	12	12	12	11	22	12	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	12	11	12	12	11	11	22	11	22	22	12	22	22	12	22	22	12	12	22	22	12	22	12	11	12	12	12	22	12	11
21	22	11	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	11	12	11	11	11	22	12	22	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	11	22	12	22	11
22	12	12	11	11	11	12	??	11	11	22	22	12	11	11	22	22	12	12	22	11	12	11	12	11	11	??	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	11	12	22	22	22
23	22	22	12	12	11	12	22	11	11	22	22	22	11	11	22	12	12	11	22	11	22	11	11	11	11	11	22	22	22	11	22	12	22	22	22	12	12	22	22	11	11	22	11	12	22	12	11	
24	22	11	11	11	11	22	11	12	11	22	12	22	12	11	22	11	22	12	22	11	11	11	11	12	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	12	22	22	11	11	11	11	12	22	12	11	
25	12	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	12	12	11	22	22	12	12	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	11	12	22	22	22	11	
26	22	22	12	11	11	22	12	12	11	22	12	22	11	22	22	12	12	12	12	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	12	12	12	12	12	22	22	12	22	12	12	12	12	12	22	22	12	11	
27	12	12	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	12	12	12	22	11	12	11	22	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	22	11	12	12	11	22	22	11	11
28	22	22	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	12	11	22	22	12	12	22	11	22	12	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	12	22	12	22	11	12	12	22	12	12	12
29	22	12	11	12	11	12	22	12	11	22	11	22	12	22	22	12	22	11	22	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	11	22	12	22	22	22	22	11	22	12	22	11	22	12	12	22	12	11	
30	22	12	12	12	11	22	22	12	11	22	22	22	11	22	22	11	22	11	22	11	12	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	11	22	22	22	11	
31	12	22	11	22	11	22	11	12	11	22	22	12	11	12	22	12	22	12	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	11	12	22	12	11	

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
32	22	12	12	22	11	12	12	12	11	22	12	12	12	11	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	12	12	22	12	22	22	22	12	12	22	11	22	12	12	11	22	12	22	11	11				
33	12	12	11	22	11	12	22	12	11	22	22	12	11	12	22	22	22	11	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	12	22	22	12	22				
34	22	12	11	12	11	22	22	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	12	11	22	11	11	22	11	11	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	11			
35	11	11	22	12	11	12	11	11	11	22	22	12	12	12	22	22	22	12	22	11	22	12	12	11	11	12	12	22	12	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	12		
36	22	11	22	22	11	11	22	11	11	22	22	12	11	12	22	12	12	11	22	11	11	12	12	11	12	22	22	22	12	22	12	22	12	22	12	12	22	22	11	11	12	22	12	12	12	12		
37	22	22	11	12	11	23	12	11	11	22	12	12	11	11	22	22	11	12	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	12	12	12	
38	12	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	12	12	22	11	12	11	12	11	11	11	12	22	22	11	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	12	22	12	12	12		
39	12	22	12	11	11	22	22	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	12	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	12	12	22	12	11	22	11	12	11	12	11	12	12	12	12			
40	12	12	12	11	11	22	11	12	11	22	22	12	12	12	22	12	22	22	22	11	22	12	22	12	11	11	22	22	22	12	22	22	11	12	12	11	22	12	11	11	12	11	12	22	12	12		
41	22	12	11	12	11	22	22	12	11	22	22	22	11	12	22	22	12	12	22	11	12	11	12	11	11	12	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	12	22	11	22	11	22	12	11	11	
42	11	22	12	11	11	12	12	11	11	22	12	22	11	22	22	22	22	11	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	12	12	12	22	12	22	22	22	22	22	12	11	11	22	11	22	22	12	11	
43	11	22	12	11	11	11	22	11	11	22	22	11	11	12	12	22	22	11	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	12	11	12	12	22	12	22	
44	12	12	12	12	11	12	22	11	11	22	22	11	11	12	22	11	22	11	12	11	11	12	11	11	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	12	11	22	22	22	12	11	11	12	22	12	22		
45	12	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	12	12	22	11	11	12	11	22	12	11	12	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	22	22	11	22	12	22	22	12	22	
46	22	12	12	11	11	22	12	12	11	22	22	12	11	12	22	22	22	11	22	11	22	12	11	11	11	12	22	22	22	12	22	12	22	22	22	12	22	22	22	11	22	12	22	22	22	11		
47	22	12	11	11	11	12	12	12	11	22	12	22	11	11	22	22	22	11	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	22	11	11	22	11	22	12	12	11	
48	22	22	12	11	11	12	22	12	11	22	22	22	11	12	22	22	22	11	22	11	12	11	22	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	12	11	11	12	11	22	22	11	12		
49	12	11	22	12	11	22	11	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	11	22	11	11	12	22	11	12	12	12	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	22	22	12	11		
50	22	12	12	11	11	12	22	12	11	22	22	12	11	11	22	22	22	11	22	11	11	12	11	11	12	11	12	12	22	22	11	22	22	22	22	22	11	22	12	12	11	22	11	12	22	12	11	
51	22	12	12	11	11	22	12	12	11	22	12	22	11	11	22	12	22	11	22	11	22	11	12	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	11	11	
52	12	11	11	11	11	22	12	12	11	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	12	12	22	12	22	12	22	22	12	11	22	22	11	11	22	12	22	22	12	11
53	22	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	11	22	11	11	11	22	11	11	11	22	??	22	11	22	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	12	12	12	11
54	22	22	12	11	11	22	11	11	11	22	12	22	11	12	22	22	22	11	12	11	11	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	12	12	22	12	11	22	12	22	11	22	11	22	22	22	12		
55	11	12	12	11	11	22	22	12	11	22	22	12	12	12	22	12	12	12	22	11	22	12	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	12	22	22	12	11	22	12	22	12	12	11	
56	12	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	11	12	12	22	22	22	12	22	11	22	22	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	22	12	12	22	22	12	22	22	11	
57	22	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	12	22	11	12	11	12	12	11	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	12	12	22	12	11	
58	12	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	11	11	22	12	22	12	22	11	12	11	11	12	11	11	22	22	22	11	22	22	12	12	22	12	22	22	12	11	22	11	12	22	22	11		
59	22	12	12	11	11	11	12	12	11	22	22	12	12	12	22	12	12	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	12	11	11	22	11	22	22	12		
60	22	12	12	11	11	12	22	12	11	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	12	22	12	12	22	22	12	11	22	11	12	22	22	11		
61	12	12	12	11	11	22	11	11	11	22	22	22	12	12	22	22	12	11	22	11	12	12	12	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	12	22	22	12	
62	22	12	12	11	11	12	22	11	11	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	12	12	12	12	11	11	22	22	12	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	12	11	22	12	22	12	
63	22	12	12	12	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	22	11	22	12	22	11	12	11	12	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	12	12	11	22	11	22	22	22	11		
64	12	12	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	11	22	11	12	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	12	12	11	22	11	12	22	22	12	
65	22	22	12	11	11	11	12	11	11	22	22	22	11	11	22	11	22	11	12	11	12	11	12	11	12	11	22	22	12	12	22	22	12	22	12	22	22	12	11	22	11	22	22	22	11			
66	22	22	12	11	11	22	11	12	11	22	22	22	11	11	22	12	12	12	22	11	12	11	12	11	11	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	11	11	22	12	22	22	11	11		
67	12	11	11	22	11	12	12	11	11	22	12																																					

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
69	22	12	12	22	11	22	22	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	22	11	11	11	11	22	12	22	22	22	11	22	22	22	22	11	22	12	22	11	22	11	22	22	12	12		
70	22	12	22	11	11	12	12	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	22	11	11	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	22	22	11	12	12	22	22	12	11		
71	12	11	11	11	11	22	12	11	11	22	12	22	11	12	22	12	22	11	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	12	12	11	22	22	12	12	22	11	22	22	22	12		
72	11	22	12	11	11	12	11	12	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	11	12	11	11	11	11	22	22	22	12	22	12	22	12	22	11	22	22	12	12	11	22	22	22	22	11		
73	22	22	12	11	11	12	11	11	11	22	22	12	12	11	22	12	12	12	12	12	12	11	11	12	12	12	22	12	12	12	12	12	22	12	22	22	11	22	22	12	22	22	11	12	22	12	11	
74	12	12	12	12	11	11	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	12	12	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	22	22	12	11	22	11	22	12	12	12	
75	22	12	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	11	22	22	11	12	11	22	11	12	12	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	22	22	11	11	22	11	12	12	12	12	
76	22	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	11	12	22	11	12	12	12	22	22	12	22	22	11	22	12	12	22	22	11	12	12	11	22	12	22	12		
77	22	22	22	11	11	12	12	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	22	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	12	12	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	11		
78	22	22	22	11	11	12	12	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	22	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	12	12	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	11		
79	12	12	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	12	12	12	22	12	11	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	22	22	12	22	11
80	22	12	12	11	11	22	22	12	11	22	12	12	11	12	22	12	12	11	12	11	22	11	11	11	12	22	22	12	11	12	22	12	12	12	12	22	11	22	22	12	11	12	11	11	22	22	12	
81	22	12	12	12	11	12	22	11	11	22	12	11	12	12	22	11	22	12	22	11	11	12	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	11	22	12	11	11	22	22	12	22	12	12	
82	22	12	22	12	11	12	12	12	11	22	22	12	12	12	22	22	22	??	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	12	11	
83	12	12	11	11	11	22	12	11	11	22	12	12	11	12	22	12	22	12	12	11	11	12	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	12	12	22	22	22	11	
84	22	12	12	12	11	11	12	11	11	22	22	12	11	12	22	22	12	11	22	11	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	22	12	11	22	11	22	22	12	12		
85	22	12	12	12	11	22	11	11	11	22	22	12	11	11	22	22	12	12	22	11	12	12	11	11	11	11	12	22	12	12	22	22	11	22	11	11	22	22	12	11	22	11	11	12	12	11		
86	22	22	12	11	11	12	12	12	11	22	22	12	11	12	22	12	22	11	22	11	11	11	11	11	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	11	12	22	22	??	11	22	12	22	11	12	12	
87	12	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	12	12	22	11	11	11	11	11	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	12	11	12	22	12	
88	22	22	22	11	11	12	12	11	11	22	12	12	11	11	22	22	11	22	11	12	12	22	11	11	11	11	11	22	12	22	12	22	22	12	22	22	11	22	12	11	12	11	22	22	22	12		
89	11	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	12	22	11	11	11	11	11	11	22	22	22	22	12	??	22	22	22	??	11	22	22	??	11	12	11	12	12	22	12		
90	22	22	22	11	11	11	22	11	11	22	12	11	11	22	22	22	22	11	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	12	11	22	22	12	11	12	11	22	12	22	22		
91	22	12	12	12	11	12	11	11	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	22	12	11	12	11	12	12	12	12	
92	22	12	12	11	11	11	12	11	11	22	12	12	11	11	22	12	12	12	22	11	22	12	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	11	12	12	22	12	12	12	
93	22	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	12	22	11	12	11	12	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	12	11	
94	22	11	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	12	11	22	11	12	11	12	11	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	12	11	
95	12	12	12	11	11	11	12	22	11	22	22	22	12	11	22	12	22	12	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	22	22	12	22	12	12	22	22	12	12	22	22	22	22	22	22	12		
96	22	11	22	11	11	22	12	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	12	12	22	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	12	12	11	
98	12	12	11	11	11	11	12	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	22	22	
99	22	22	12	11	11	12	12	12	11	22	22	12	11	12	22	12	22	11	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	11	11	22	22	12	11	12	12	22	22	12	11		
100	12	11	12	12	11	12	11	11	11	22	22	22	12	12	12	12	22	12	22	11	12	11	11	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	22	11	
101	22	12	11	22	11	11	12	11	11	22	12	11	11	12	22	22	22	11	12	11	22	12	12	11	12	22	22	22	12	12	22	12	22	22	12	12	22	12	11	22	11	12	22	12	12	12		
102	12	12	12	11	11	22	22	12	11	22	22	12	11	11	22	22	11	11	22	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	12	22	12	11	
103	22	12	12	11	11	12	12	22	11	22	22	12	11	12	22	22	12	11	22	11	11	11	11	11	11	12	22	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	12	22	11	12	11	22	11	12	12		
104	12	22	22	22	11	12	22	11	12	22	22	22	11	11	22	12	22	12	22	11	11	22	12	12	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	12	22	22	11	11	12	12	12	22	22	11	
105	22	1																																														

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719			
107	22	22	12	11	11	22	11	12	11	22	22	11	12	12	22	22	22	11	22	11	12	12	11	11	11	12	22	22	22	12	12	12	12	22	22	22	22	22	11	11	12	12	22	22	12	12			
108	12	12	11	12	11	22	12	11	11	22	12	11	12	22	22	12	12	12	22	11	12	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	12	12	11	22	22	12	22	11	11	22	11	12				
109	22	22	12	12	11	22	11	11	11	22	22	12	11	12	22	12	22	12	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	11	22	22	12	11			
110	22	22	12	12	11	12	12	11	11	22	22	12	12	12	22	12	12	12	22	11	12	12	12	11	12	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	12	22	22	11			
111	12	12	11	11	11	12	22	12	11	22	12	12	11	11	22	22	12	12	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	12	11	22	22	22	22	22	22	11	22	12	11	12	22	11	22	12	22	12		
112	12	22	11	12	11	12	12	12	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	12	12	22	12	22	11		
113	12	11	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	22	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	12	12	11	22	22	11		
114	22	12	22	12	11	12	12	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	22	11	11	12	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	12	22	11		
115	12	22	12	11	11	22	22	11	11	22	22	11	11	12	22	22	12	12	22	11	22	11	11	11	22	12	22	22	12	22	12	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	12	11			
116	22	12	11	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	22	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	12	12	22	12	22	22	22	12		
117	22	12	??	??	11	12	22	11	11	22	22	12	11	11	22	12	12	12	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	??	22	11	12	12	12	22			
119	22	22	22	11	11	12	11	11	11	22	22	22	12	12	12	12	22	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	11	22	12	22	11	22	11	22	22	12	12		
120	12	12	22	11	11	22	11	11	11	22	22	22	11	11	22	12	12	11	22	11	22	11	22	11	11	12	22	22	22	11	22	12	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	11	12	22	12	12		
121	22	11	11	22	11	22	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	11	11	22	11	11	11	12	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	12	22	12	22	22	22	22	12			
122	12	12	11	12	11	12	22	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	11	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	12	22	11	12	22	22	22	11	12	11	11	22	22	12			
123	11	11	22	22	11	22	22	11	11	22	22	11	11	12	22	22	??	11	22	11	11	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	12	12	12	22	11	22	22	22	11	22	11	22	11	22	22	12		
124	22	12	11	11	11	22	12	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	11	12	11	11	11	11	22	12	12	12	22	22	12	22	12	22	11	22	22	12	22	12	11	12	12	12	12		
125	12	11	12	12	11	22	12	11	11	22	12	12	11	11	22	12	22	12	22	11	11	11	12	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	22	11	22	22	12	11	
126	12	22	12	11	11	22	12	11	11	22	22	11	11	12	22	22	22	12	22	11	12	12	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	12	11	11	12	11	22	12	12	12	11		
127	12	22	12	11	11	22	11	11	11	22	22	11	12	22	22	22	12	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	12	12	12	12	11			
128	22	22	12	12	11	22	22	12	11	22	22	12	11	12	22	12	12	11	12	11	12	11	12	11	11	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	12	12	11	12	12	22	22	11		
129	12	12	12	11	11	12	12	12	11	22	22	22	11	11	22	12	22	22	11	12	12	12	12	11	12	12	22	22	12	12	22	12	22	12	22	22	11	22	22	22	11	12	11	12	22	22	11		
130	12	12	12	11	11	22	11	11	11	22	12	22	22	12	22	22	22	12	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	12	22	11		
131	12	11	22	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	12	22	11	11	11	12	11	12	12	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	11	22	22	12	12	22	11	12	22	12	11		
132	22	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	11	12	12	11	11	12	12	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	11	22	22	22	12		
133	22	22	22	11	11	22	11	12	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	12	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	12	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	12	12	22	12	22		
134	22	11	12	11	11	22	11	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	12	12	
135	12	12	22	12	11	22	22	11	12	22	22	22	11	11	12	12	22	11	12	11	11	22	11	11	11	12	22	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	22	12	22	
136	12	12	12	12	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	11	12	12	22	11	11	11	12	22	22	22	12	12	22	22	12	22	22	11	22	22	11	12	12	22	22	11	12	22	
137	12	12	11	12	11	22	12	12	11	22	22	22	12	11	22	12	22	11	22	11	12	12	12	11	12	12	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	11	22	12	12	11	22	11	22	22	12	12		
138	12	11	12	11	11	12	22	11	12	22	12	22	12	12	12	12	22	22	22	11	12	12	11	11	22	12	22	22	12	12	22	12	22	12	22	22	11	22	22	11	11	22	11	22	22	22	11		
139	22	12	12	12	11	12	12	12	11	22	22	22	11	22	22	12	12	11	22	11	11	12	11	11	12	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	11	22	11	22	12	12	11
140	22	12	11	11	11	12	22	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	11	12	12	11	11	12	22	12	22	12	22	12	22	12	22	22	12	22	22	22	11	12	11	12	22	22	11		
141	11	12	12	12	11	22	22	11	11	22	22	11	11	11	22	22	22	11	22	11	22	12	12	11	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	22	12	22	22	11	11	22	11	12	11	22	12			
142	22	11	22	12	11	12	22	11	11	22	12	12	11	22	12	12	11	12	11	11	11	12	12	11	22	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	12													

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
146	12	12	11	11	11	12	22	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	22	11	11	11	11	11	22	12	22	12	12	22	22	22	22	12	22	22	11	11	22	22	12	12	22	11		
148	22	11	12	11	11	11	22	11	12	22	22	22	11	22	22	12	12	12	22	11	11	12	22	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	11	22	22	22	11	12	12	22	22	12	12		
149	12	11	12	11	11	11	12	11	11	22	22	11	11	12	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	22	22	22	22	22	11	22	12	12	12	11	22	12	12	11	12	12	22	22	22	12		
150	11	12	22	12	11	22	22	11	11	22	22	12	12	11	12	12	12	12	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	12	11	22	22	12	11	22	11	12	22	22	12	
151	22	12	11	22	11	22	12	12	11	22	12	22	11	12	22	12	22	12	22	11	12	12	22	11	11	11	22	22	11	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	12	11	22	12	12	22	12	12	
152	12	22	12	11	11	12	11	11	11	22	12	12	11	11	22	22	22	11	12	11	22	11	12	11	11	11	12	22	22	12	22	22	22	22	12	22	12	22	22	12	11	22	22	22	22	11	11	
153	22	12	22	11	11	12	22	12	11	22	12	22	11	12	22	12	12	11	22	11	11	12	12	11	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	11	11		
154	12	11	12	11	11	11	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	12	11	11	11	11	11	11	11	22	12	12	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	12	12	12	12	12		
155	22	22	22	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	22	12	22	11	22	11	12	11	22	11	11	12	22	22	22	22	12	22	12	12	12	22	11	22	22	22	11	22	11	22	22	12	22	
156	12	11	11	11	11	12	12	11	11	22	12	22	11	11	22	12	22	12	22	11	11	11	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	12	22	22	11	
157	22	12	22	11	11	12	22	11	12	22	12	22	22	12	22	12	22	22	22	11	12	22	11	12	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	11	22	12	11	11	
158	12	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	12	22	11	12	12	??	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	12	12	12	12	11	12	22	12	12	
160	12	12	22	11	11	22	11	11	11	22	12	22	11	12	22	22	12	12	22	11	11	12	12	12	11	11	22	22	22	12	22	11	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	22	22	11		
161	22	22	11	12	11	22	12	12	11	22	12	22	12	22	22	22	12	11	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	12	12	11	22	12	11		
162	11	11	12	11	11	12	12	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	12	11	12	11	12	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	12	12	12	11	22	22	12	
163	22	12	11	11	11	12	11	12	11	22	12	22	12	12	22	12	12	11	12	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	11	11	11	12	12	12	11	
164	22	12	12	11	11	22	11	11	11	22	22	12	11	11	22	22	12	11	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	12	11	22	22	22	12		
165	12	12	22	11	11	22	12	11	11	22	12	12	11	12	22	22	12	12	11	12	12	12	11	12	11	12	11	12	22	12	22	12	22	12	12	22	22	22	12	12	12	12	12	12	12	22	11	
166	12	22	11	11	11	22	12	11	11	22	22	12	11	12	22	22	22	12	22	11	22	12	22	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	12	11	
167	12	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	12	12	11	22	12	22	11	22	11	22	11	11	11	12	11	22	22	22	22	22	12	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	22	12		
168	22	22	11	12	11	22	22	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	11	11	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	22	12	
169	22	22	12	22	11	22	12	11	11	22	22	12	12	12	22	12	22	11	22	11	11	22	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	12	11
170	11	22	12	12	11	12	11	11	11	22	22	22	11	12	22	22	12	12	22	11	12	12	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	12	22	22	22	11	
171	22	12	12	11	11	22	12	12	11	22	12	22	11	12	22	22	12	11	12	11	12	12	11	11	12	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	11
172	22	12	12	11	11	12	12	11	11	22	12	12	11	12	22	11	11	12	12	11	22	11	11	12	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	12	12	11	22	
173	22	22	12	11	11	22	12	12	11	22	22	12	12	11	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	11	12	22	22	12	22	12	11	22	22	22	11	22	11	12	22	12	11		
174	22	12	22	12	11	12	22	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	12	12	12	11	11	12	22	22	12	12	11	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	12	11	12	22	12	11	
175	22	11	12	12	11	12	22	11	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	12	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	11	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	12	11	12	22	11	22	12	12
176	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	22	22	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	12	22	22	12	22	
177	12	12	12	11	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	11	12	12	11	12	11	12	22	22	22	22	12	22	12	12	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	11	
178	11	12	22	11	11	22	22	11	11	22	12	12	11	11	22	12	22	12	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	12	12	22	22	11	22	22	12	11	12	12	12	22	22	11		
179	22	11	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	12	12	22	11	22	11	22	12	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	12	12		
180	12	12	22	11	11	11	22	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	22	12	22	11	11	12	22	22	22	11	22	22	22	22	22	12	12	22	22	11	11	12	11	22	22	11	12	
181	12	12	22	12	11	12	22	11	11	22	22	22	11	12	22	22	12	12	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	12	12	22	22	12	22	22	11	22	22	22	11	12	11	12	22	12	11		
182	22	12	12	22	11	22	12	11	11	22	22	12	22	??	22	22	22	22	11	22	11	12	11	22	11	11	22	22	12	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	12							

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
185	22	11	12	12	11	12	12	11	11	22	22	11	11	12	12	22	22	12	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	12	11		
186	12	11	12	12	11	22	12	12	11	22	22	12	22	11	22	11	12	12	22	11	12	11	11	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	12	12	22	22	22	22	12		
187	22	22	11	12	11	22	11	12	11	22	22	22	22	12	22	12	12	11	22	11	11	12	22	12	11	12	22	22	22	22	12	22	12	12	22	22	11	22	22	22	11	12	22	22	22	22		
188	12	11	11	12	11	11	22	11	11	22	22	22	12	11	22	12	12	11	22	11	11	12	11	11	11	11	22	22	22	22	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	12	22	22	11	
189	22	12	22	12	11	22	11	11	11	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	22	12	11	22	11	12	22	12	12		
190	12	12	22	11	11	22	22	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	22	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	12	22	11	12	
191	12	12	12	12	11	12	12	11	11	22	22	11	12	12	22	22	22	11	22	11	12	12	11	11	11	12	22	22	22	12	12	11	12	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	22	12		
192	22	11	22	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	11	22	11	12	12	11	11	11	12	22	12	22	11	22	22	12	22	22	11	22	12	12	11	22	12	22	22	22	12		
193	12	12	22	12	11	22	11	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	12	22	12	11	12	12	11	11	12	12	22	22	11	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	11	22	22	22	12		
194	12	12	12	22	11	22	12	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	12	11	11	12	12	12	12	12	11			
195	22	11	11	11	11	11	22	11	11	22	12	22	12	11	22	22	11	12	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	11	12	22	22	22	12	11	22	12	22	12	12	11	22	12	12	11		
197	22	12	12	11	11	11	11	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	11	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	12	22	11	22	11	12	22	11	11	
198	22	12	12	11	11	22	22	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	12	22	11	22	22	12	12	11	11	22	22	22	11	22	11	12	22	22	12	22	22	12	11	22	11	12	12	12	11		
199	12	22	22	12	11	22	22	12	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	22	22	12	12	12	11	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	11	11	22	22	12	11		
200	12	22	12	11	11	12	22	11	11	22	12	22	11	12	22	11	22	11	22	11	12	12	22	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	22	11	
201	22	12	12	22	11	22	22	11	11	22	22	12	11	12	22	22	22	11	22	11	12	11	22	11	11	22	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	12		
202	12	11	12	11	11	11	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	11	22	11	11	12	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	12	12	11	12	11	12	22	12	12	
203	22	12	11	11	11	22	22	11	11	22	12	22	22	11	22	12	22	11	22	11	11	12	11	11	12	12	22	22	22	12	12	22	22	22	22	12	22	22	12	11	12	11	12	11	12	12	12	
204	12	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	22	12	12	11	11	12	12	22	22	22	12	12	22	22	22	22	12	22	22	12	12	12	11	22	22	11	12	
205	12	22	11	12	11	12	12	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	22	12	22	12	22	12	22	22	12	22	22	12	12	12	11	12	22	12	12	
207	22	22	12	11	11	12	22	11	11	22	12	12	11	12	22	12	22	12	12	11	22	12	11	11	11	11	22	22	12	22	22	22	12	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	12	12	22	11	
208	22	12	12	11	11	12	12	12	11	22	22	22	12	12	22	12	22	11	22	11	11	12	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	22	22	??	11	22	11	22	22	22	22		
209	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	11	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	12	11	12	11	12	12	12		
210	22	12	12	22	11	22	22	11	11	22	12	22	11	11	22	22	22	12	22	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	11	12	
211	12	22	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	11	12	12	12	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	22	11	22	12	11	22	11	12	22	12	11	
212	12	22	11	11	11	12	11	??	11	22	22	22	12	11	22	12	12	22	22	11	22	11	12	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	12	11	22	12	22	22	11	11	
213	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	12	22	11	22	11	22	11	12	22	11	12	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	12	22	22	12	12
214	22	12	22	11	11	12	12	12	11	22	12	22	12	11	22	12	22	22	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	22	12	12	22	12	11	22	22	12	12	11	11	22	22	22	22	22		
215	22	12	22	11	11	12	22	12	11	22	12	22	11	11	22	12	22	11	12	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	11	22	12	12	11	12	11	12	22	22	11	
216	22	12	22	11	11	12	12	12	11	22	12	22	12	11	22	12	22	22	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	22	12	12	22	12	11	22	22	12	12	11	11	22	22	22	22	22		
217	22	12	11	11	11	12	22	11	11	22	12	12	11	11	22	22	11	22	22	11	11	11	22	12	11	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	12	12	
218	22	22	12	??	11	22	22	11	11	22	12	12	11	11	22	22	22	11	22	11	11	12	12	11	11	11	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	22	11	12	22	11	11	22	12	11			
219	22	11	22	11	11	22	11	12	11	22	22	22	11	12	22	22	22	12	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	11	11	12	12	12	11		
220	22	12	12	12	11	12	11	11	12	22	12	12	12	12	22	22	22	11	22	11	11	12	12	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	11	22	12	12	11	12	12	11	22	12	11		
221	22	22	12	11	11	12	22	11	11	22	22	12	11	12	22	22	22	11	12	11	11	11	12	11	11	22	22	22	12	12	12	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	12	22	11		
222	12	12	12																																													

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719			
224	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	12	22	22	12	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	11	12	12	22	22	22	12	22	12	22	11	22	11	22	22	11	11				
225	11	12	11	12	11	12	22	11	11	22	22	12	11	22	22	12	22	11	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	12	11	12	22	22	22			
226	22	12	12	12	11	22	11	11	12	22	22	12	12	12	22	12	22	12	22	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	22	22			
227	22	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	11	11	12	11	12	11	11	12	12	22	22	22	12	22	22	12	22	11	22	22	12	11	12	12	12	22	22	12		
228	22	12	12	12	11	12	11	12	11	22	12	22	11	12	22	22	12	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	11	12	11	11	22	12	12	12		
229	22	12	12	12	11	12	12	12	11	22	22	12	12	12	22	12	22	12	22	11	22	11	22	12	11	11	22	22	12	12	22	12	22	22	22	11	22	22	11	12	22	22	22	12	22	11			
230	11	22	22	11	11	12	11	11	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	22	22	11	11	12	22	22	12	22	22	22	12	12	22	11	22	22	11	11	11	12	11	22	12	12			
231	12	22	12	11	11	12	22	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	12	12	12	22	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	11	22	12	11	22	12	11	22	12	12	22			
232	12	22	22	11	11	22	22	11	11	22	11	11	12	12	22	11	22	11	22	11	22	11	22	11	12	22	22	22	22	12	22	11	22	22	12	12	22	22	11	12	12	12	22	22	12	12			
233	22	22	11	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	22	22	12	22	11	22	11	22	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	12	12	11	12	11	22	22	12	11			
234	12	22	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	12	22	11	11	11	11	11	11	12	22	22	12	12	22	12	12	22	12	11	22	22	11	11	11	22	22	22	11	11			
235	12	22	12	11	11	22	12	11	11	22	12	22	11	11	22	12	12	11	22	11	12	22	22	11	12	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	12	12	12	11	12	12	12	11			
236	22	12	12	11	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	12	22	11	11	11	12	11	11	12	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	12	11	11			
237	22	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	12	22	12	22	12	22	11	11	11	22	12	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	22	22	12	11			
238	22	12	12	11	11	12	12	11	11	22	12	12	11	22	22	12	12	11	22	11	12	11	12	11	12	11	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	11	22	22	22	12	12	12	11	22	22	12
239	22	22	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	12	22	11	12	11	22	11	11	22	12	22	22	12	22	11	22	22	22	12	22	12	11	11	22	11	22	22	22	11			
240	12	12	12	12	11	22	11	11	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	12	12	12	11	11	22	22	22	22	22	22	12	22	12	12	22	12	12	22	12	11	11	12	12	11			
241	11	12	11	12	11	12	22	11	11	22	22	12	11	22	22	12	22	11	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	12	11	12	22	22	22			
242	12	12	12	12	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	12	12	11	12	11	22	22	11	12		
243	22	22	12	12	11	11	11	11	11	22	11	12	11	12	22	22	12	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	12	22	11	22	11	22	11	22	22	12	11		
244	22	22	12	12	11	22	11	11	11	22	22	11	11	12	22	22	12	11	12	11	11	12	11	11	11	12	11	22	12	22	22	22	12	22	22	11	22	22	11	22	12	11	22	22	12	12			
245	11	12	22	11	11	11	12	11	11	22	22	12	11	11	22	22	12	11	22	11	12	12	12	11	12	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	12	11	11	11	12	22	11	12			
246	22	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	12	12	12	22	22	11	12	12	11	11	11	22	11	11	12	22	22	12	12	22	22	22	22	22	22	12	22	12	12	11	22	22	22	11	22			
247	12	11	11	11	11	12	11	11	11	22	22	11	11	11	22	22	12	11	12	11	22	11	11	11	11	11	22	12	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	12	11	22	12	12		
248	22	12	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	11	12	12	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	12	22	22	12	12	22	22	12	11	22	11	22	12	22	11			
249	12	12	12	11	11	12	22	12	11	22	22	12	12	12	22	12	22	12	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	22	11		
250	22	12	11	11	11	12	12	11	11	22	11	12	11	11	22	12	22	11	22	11	22	12	11	12	11	11	22	22	22	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	11	12	11	22	22	11	11			
251	12	11	12	12	11	11	11	12	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	12	11	12	12	12	11	12	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	12	12	22	12	22	11			
252	22	22	22	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	12	22	22	12	11	22	11	22	12	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	12	22	12	22	11	22	12	22	22	12	11		
253	22	12	22	22	11	22	22	11	11	22	22	22	12	11	22	22	12	22	22	11	12	11	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	11	22	11	22	12	11	11			
254	12	12	11	22	11	22	22	11	11	22	12	22	11	11	22	22	12	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	12	12	11	22	11	11	22	22	11			
255	12	12	12	11	11	22	11	12	11	22	22	22	12	11	22	22	12	11	22	11	11	12	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	12		
256	22	11	22	22	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	22	11	11	11	12	12	11	22	22	22	22	12	22	11	12	22	12	12	22	22	22	11	11	11	22	12	??	12			
257	22	11	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	22	22	11	12	11	11	12	11	11			
258	22	12	11	12	11	12	11	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	11	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	11	12	11	12	22	12	11			
259	12	12	11	11	11	12	12																																										

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719			
261	12	22	12	11	11	12	22	12	11	22	22	22	11	11	22	12	22	12	22	11	12	12	22	11	12	11	22	22	22	22	11	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	12			
262	12	12	12	11	11	12	12	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	12	22	11	11	11	22	11	12	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	12	22	22	22	11			
263	22	11	22	11	11	22	12	11	11	22	22	12	11	11	22	12	12	11	22	11	11	11	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	22	12	22	12	22	12	22	22	12			
264	22	12	12	12	11	22	12	12	11	22	12	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	11	22	22	12	22	12	22	22	11	12				
265	12	11	12	12	11	12	12	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	11	12	22	11	11	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	12	11	11	22	11	12	12	11	11			
266	22	22	12	22	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	12	12	11	12	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	12	22	22	12	11	22	22	12	11	22	11	12	22	??	11		
267	12	12	12	11	11	22	11	11	11	22	11	22	12	11	22	22	22	11	22	11	11	11	12	12	11	22	22	22	22	12	12	12	12	22	22	22	12	22	22	12	12	22	12	22	12	12			
268	12	12	12	11	11	22	12	12	11	22	22	22	12	12	22	22	12	12	22	11	12	22	22	11	11	11	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	11	22	22	22	11	12	11	22	22	22	22		
269	22	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	22	11	11	11	12	11	11	12	11	22	22	12	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	11	11	22	22	11	12		
270	22	11	12	11	11	11	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	12	22	12		
271	22	12	22	11	11	13	11	11	11	22	11	22	12	11	22	12	11	12	12	11	11	11	11	11	12	11	22	22	22	12	12	12	22	22	11	11	22	22	12	12	12	11	22	22	22	11			
272	22	11	12	12	11	11	12	11	11	22	12	22	11	22	22	12	22	12	22	11	12	12	12	11	12	22	22	22	22	22	22	12	22	12	22	12	11	22	22	22	11	12	12	12	22	22	11		
273	12	22	12	11	11	11	22	12	22	22	11	22	22	12	22	11	22	22	12	11	11	11	12	12	12	22	22	22	22	22	22	22	12	11	12	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	12	12		
274	12	12	12	11	11	11	22	12	11	22	22	22	12	12	22	22	22	12	12	11	11	11	22	11	12	12	22	22	22	22	22	22	12	11	22	12	12	22	22	12	12	22	12	22	12	11			
275	22	12	12	12	11	22	12	12	11	22	22	22	12	11	22	11	22	11	22	11	22	12	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	11	12	12	12	11		
276	12	12	22	11	11	12	11	11	11	22	12	22	12	11	22	22	12	12	12	11	22	12	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	12	12	22	12	12		
277	12	22	22	11	11	22	22	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	12	22	11	22	11	12	12	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	12	11	22	22	11	12	12	11	22	22	12	11	
278	22	12	22	11	11	11	12	11	11	22	12	22	12	22	22	12	12	11	22	11	11	11	22	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	12	12	12	11		
279	22	11	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	11	11	12	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	12	12	11	22	11	22	22	22	11			
280	12	12	12	12	11	12	22	12	11	22	22	22	12	11	22	22	12	11	22	11	22	11	11	11	12	12	12	22	22	22	12	22	22	12	22	12	11	22	22	22	11	12	11	22	22	11	12		
281	22	22	11	11	11	12	12	12	12	22	22	12	11	11	22	22	??	11	22	11	11	11	11	11	12	12	12	22	22	22	12	12	12	22	22	11	22	22	22	11	12	11	??	22	11	12			
282	12	22	22	11	11	12	12	12	11	22	12	22	22	22	22	22	12	11	22	11	11	12	22	12	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	12	12	12	12	22	22	12	11		
283	22	12	11	12	11	22	11	11	11	22	12	22	11	11	22	22	12	22	11	11	12	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	12	12	22	12	12	22	12	22	11	11	22	11	22	22	12	12		
284	22	22	11	12	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	12	22	11	22	12	11	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	22	12	12	12	22	12	12	
285	12	12	12	11	11	12	11	11	11	22	22	12	12	11	22	12	22	11	22	11	12	11	22	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	12	22	22	11	11	11	12	12	22	12	11		
286	12	12	22	11	11	22	22	11	11	22	22	11	12	11	22	22	22	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	11	11	12	22	12	11		
287	22	12	12	11	11	22	11	11	11	22	22	12	11	12	22	12	22	11	22	11	12	12	22	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	11	11	22	11	12	12	12	12		
288	11	12	12	12	11	22	22	11	11	22	12	12	12	11	22	11	22	11	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	11	12	22	11	12	
289	22	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	12	12	11	22	11	22	12	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	11	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	12	12	22			
291	12	12	12	11	11	22	11	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	12	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	22	11	12	12	22	22	22	11	22	12	12	11	22	11	22	22	12	12			
292	22	11	11	12	11	12	12	12	11	22	22	22	11	22	22	12	22	22	22	11	11	11	12	11	11	22	12	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	11	12	22	11	22	12	22	22			
293	22	11	11	11	11	22	12	12	11	22	12	22	22	11	22	12	22	22	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	12	11	22	12	22	12	22	11			
294	22	22	12	11	11	22	22	11	11	22	12	22	11	11	22	12	22	12	22	11	12	11	12	11	22	11	22	22	22	12	22	22	11	22	22	11	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	12	12	
295	22	12	11	12	11	22	22	12	11	22	12	12	11	12	22	12	11	22	22	11	12	22	12	11	11	12	22	22	12	11	22	22	12	22	22	12	22	22	12	22	22	11	11	12	11	12	22	12	12
296	22	22	12	11	11	22	11	11	11	22	22	12	11	11	22	12	12	11	22	12	12	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	22	11</									

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719		
299	12	11	11	12	11	12	11	11	11	22	12	22	12	22	22	22	12	22	11	11	11	11	11	12	11	22	22	22	22	12	12	22	22	22	22	12	22	12	11	12	22	11	22	12	12	11		
300	12	22	11	11	11	12	22	11	11	22	22	22	11	11	22	12	12	12	22	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	11	22	12	22	22	22	11	22	12	22	11	22	12	12	12	11			
302	12	11	22	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	12	22	11	12	11	12	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	22	12	22	22	11	11	22	11	22	22	12	11			
303	12	12	12	12	11	22	22	11	11	22	22	22	12	11	22	12	22	12	22	11	12	11	22	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	22	22	12	11		
304	22	12	11	22	11	22	12	11	11	22	12	12	12	12	22	12	12	22	22	11	11	11	12	11	11	11	22	12	22	22	22	12	12	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	12	11		
305	22	12	11	11	11	12	12	11	11	22	12	22	22	12	22	12	11	11	22	12	12	12	11	11	12	12	22	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	22	11	12	22	22	11	
306	12	12	12	12	11	22	12	11	11	22	12	11	12	12	22	12	12	11	22	11	11	12	12	11	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	12	11	22	12	12	22	
307	22	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	11	12	12	22	12	22	11	22	11	12	11	12	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	12	12	22	11	12	22	11	11		
308	22	11	11	22	11	22	12	11	11	22	22	22	11	12	22	22	12	11	22	11	11	11	12	12	11	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	12	12	12	12		
309	12	22	11	22	11	12	22	12	11	22	22	12	11	12	22	22	22	12	22	11	12	11	11	11	12	12	22	22	12	12	22	12	22	22	22	12	22	22	12	11	12	12	12	12	12	22		
310	12	12	11	11	11	12	12	11	11	22	22	12	11	22	22	12	12	11	22	11	22	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	11	22	22	12	11	12	11	12	22	12	11	
311	22	22	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	22	12	22	22	12	11	12	12	12	11	11	12	22	12	22	22	22	12	22	22	12	22	12	22	22	22	??	11	11	11	22	22	22	12
312	12	22	12	11	11	22	22	22	11	22	22	22	11	11	12	11	12	11	11	11	12	12	22	12	11	12	22	12	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	22	12	11	22	11	22	22	12	12	
313	11	12	12	11	11	12	12	12	11	22	22	12	12	12	22	12	22	11	22	11	22	11	11	12	12	12	22	22	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	11	12	12	22	12	11
314	12	11	22	11	11	11	12	12	11	22	12	12	11	12	22	12	12	11	22	11	12	11	22	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	12	22	12	12	11	12	22	12	11
315	22	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	22	12	12	22	12	22	12	22	11	11	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	12	12	22	11	12	22	12	12	
316	22	11	22	11	11	22	22	11	12	22	22	12	12	22	22	22	12	11	22	11	22	11	11	11	11	22	22	22	22	11	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	22	11	12	??	12	
317	22	12	12	11	11	12	22	11	11	22	22	11	11	12	22	11	12	12	12	11	11	12	12	11	11	12	22	22	22	12	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	12	12	22	12	12	12		
318	12	22	22	12	11	12	22	11	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	22	12	22	11	11	12	22	22	22	12	22	22	12	22	22	11	22	22	22	11	12	11	22	11	11	11		
319	22	11	12	12	11	22	11	11	11	22	22	12	12	11	22	12	12	11	12	11	11	11	11	11	12	22	22	22	22	12	12	22	22	22	22	11	22	12	12	11	22	11	11	22	22	12		
320	22	22	12	11	11	12	11	11	12	22	22	12	11	11	22	22	22	11	22	11	12	12	22	11	11	12	22	22	12	12	12	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	??	22	11	12		
321	12	12	12	11	11	22	11	12	11	22	22	11	11	12	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	11	12	22	22	12	12	22	22	22	22	12	11	22	22	11	11	22	11	22	22	12	11	
324	12	12	22	12	11	22	22	11	11	22	12	22	11	11	22	12	11	22	22	11	12	11	22	11	11	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	11	22	22	22	12		
325	22	12	12	11	11	22	12	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	11	22	11	22	??	22	12	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	12	22	22	12	11	11	22	11	12	12	11	12
326	22	22	11	11	11	22	11	11	11	22	22	12	11	22	22	12	12	11	22	11	11	22	12	11	12	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	11	22	12	12	
327	22	12	12	11	11	22	??	11	11	22	12	22	11	12	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	12	12	12	12	22	22	22	11		
328	12	12	12	11	11	11	11	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	22	22	11	11	12	22	11	11	12	22	22	12	12	22	12	12	22	12	12	11	22	12	11	22	12	12	22	22	12		
329	22	11	11	12	11	11	11	11	11	22	12	11	11	12	22	22	22	11	12	11	22	11	11	11	12	12	22	22	12	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	11	12	11	12	22	12	12	
330	22	12	11	12	11	11	12	11	12	22	22	12	11	12	22	12	22	11	22	11	22	11	12	11	12	12	22	22	22	12	22	12	22	12	22	12	12	22	22	12	11	22	11	12	22	12	11	
331	22	22	11	11	11	12	22	11	12	22	22	22	11	11	22	12	22	12	22	11	11	11	22	11	12	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	12	22	11	12	11	22	11	22	22	22	11	
332	22	11	11	12	11	22	22	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	12	22	11	22	11	22	11	11	11	22	22	22	22	11	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	12		
333	22	11	12	12	11	22	22	12	11	22	12	12	11	12	22	11	12	12	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	12	22	12	11	22	22	12	12	22	12	22	22	12	11	
334	12	12	12	22	11	22	11	12	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	22	12	11	12	12	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	22	12	12	11	12	11	12	22	22	12	
335	22	12	12	12	11	12	11	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	11	22	11	11	11	22	11	12	11	22	22	22	12	22	12	22	22	22	11	22	12	11	11	22	11	12	11	12	12		
336	12	12	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	11	22	12	22	11	22	11	12	11	22	11	11	12	22	22	12	12	22	12	22	12	22	11	22	22	12	11	12	12	11	22	22	11		

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719	
339	22	11	11	11	11	22	12	11	11	22	12	12	11	11	22	22	22	11	12	11	12	22	12	11	12	12	22	22	22	11	11	12	12	22	22	11	22	22	11	11	22	11	12	22	12	11	
340	22	22	22	12	11	12	11	11	11	22	12	22	11	11	22	22	22	12	12	11	12	11	12	11	12	12	22	12	22	12	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	12	12		
341	22	12	11	12	11	22	12	12	11	22	12	12	11	11	22	12	22	12	22	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	11	12	12	12	12	11	11			
342	11	12	11	11	11	12	12	12	11	22	12	22	11	12	22	22	22	12	22	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	22	11		
343	12	12	22	11	11	22	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	22	12	22	22	22	12	22	22	22	11	11	12	22	22	12	12		
344	22	11	22	11	11	12	11	11	11	22	22	12	12	11	22	12	12	22	22	11	12	12	12	12	11	11	22	22	22	22	12	22	22	12	22	22	12	12	22	12	22	22	12	11			
345	22	12	12	11	11	12	22	11	11	22	22	22	22	12	22	12	22	11	22	11	11	12	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	11	
346	12	12	11	11	11	22	12	12	11	22	12	22	11	12	22	12	12	22	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	22	12	22	11
347	22	12	11	11	11	22	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	12	12	12	12	22	22	11	22	22	12	11	12	22	11	22	12	11	
348	22	12	11	12	11	12	12	11	11	22	12	22	12	11	22	22	22	12	22	11	22	12	22	11	12	12	22	22	22	12	22	12	22	22	22	12	22	12	12	11	22	12	12	12	22	12	
349	12	12	12	11	11	22	22	11	11	??	22	22	12	12	22	22	22	22	22	12	12	11	12	11	11	12	??	22	22	22	12	22	12	12	22	11	22	22	12	11	22	11	12	22	12	12	
350	12	12	12	11	11	22	12	12	11	22	22	22	12	11	22	12	22	11	22	11	12	12	22	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	12	11
351	12	11	11	11	11	12	12	11	11	22	12	12	11	12	22	12	22	11	22	11	22	12	12	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	11	22	22	12	12	22	11	22	22	22	12
352	12	12	22	12	11	12	12	12	11	22	22	12	12	12	22	11	22	12	22	11	22	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	12	12	22	22	12	11	
353	12	11	12	12	11	12	12	11	11	22	22	12	12	11	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	12	22	11	22	22	12	11	11	12	22	22	22	12	
354	22	12	11	11	11	12	22	11	11	22	22	22	11	11	22	22	12	11	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	22	22	12	11		
355	12	12	12	12	11	22	22	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	11	22	11	11	11	11	11	11	11	22	12	22	11	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	12	11	22	22	22	11	
356	12	22	11	??	11	22	12	12	11	22	22	12	12	12	22	12	12	12	12	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	12	22	11	22	12	22	12	22	22	11	11	12	11	12	22	11	11	
357	12	11	12	11	11	12	12	12	11	22	22	12	12	11	22	11	22	11	22	11	22	11	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	12	12	22	11	12	11	12	22	22	11			
358	12	12	11	12	11	22	12	11	11	22	22	12	12	12	22	22	22	12	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	12	12	11	22	22	12	12		
359	22	11	12	11	11	22	22	12	11	22	12	22	11	22	22	12	12	11	22	11	12	12	11	11	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	12	22	11	12	22	12	11		
360	22	12	11	12	11	22	11	12	11	22	22	??	11	22	22	11	11	22	11	12	11	??	11	11	11	12	22	22	22	??	22	12	12	22	22	12	22	22	22	12	12	12	12	12	12	11	
361	22	12	11	11	11	11	22	11	11	12	22	12	??	11	22	??	12	11	22	11	12	12	22	12	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	12	12	12	12	12	12	12	
362	22	11	12	11	11	12	11	12	11	22	22	22	12	11	22	22	22	11	22	11	11	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	12	11	11	12	11	12	22	12	12
363	12	22	12	12	11	22	22	11	11	22	22	12	11	11	22	22	22	12	22	11	11	11	11	11	11	11	22	22	22	11	22	22	12	22	12	12	22	22	12	11	12	11	12	22	11	12	
364	12	12	11	11	11	11	22	12	11	22	22	12	11	12	22	12	22	12	22	11	22	11	22	11	22	12	22	22	22	22	22	12	12	22	12	11	22	22	12	11	22	11	22	12	22	12	
365	22	11	12	12	11	12	12	11	11	22	22	22	12	12	22	22	11	11	22	11	22	22	11	11	11	11	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	12	12	22	22	12	11	
366	12	11	22	11	11	22	12	12	11	22	22	12	11	12	22	12	12	11	22	11	22	12	11	11	11	11	22	22	12	12	22	12	22	22	22	11	22	22	22	11	22	12	22	22	22	11	
367	12	12	22	11	11	22	11	11	11	22	22	11	11	11	22	22	22	11	22	11	12	11	12	11	12	11	22	22	22	12	22	22	12	22	12	12	22	12	12	12	12	22	12	22	12		
368	11	12	12	11	11	22	22	11	12	22	22	22	11	12	22	12	22	22	22	11	11	11	22	11	12	12	22	22	12	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	12	22	22	22	12	22	11	
369	12	22	11	11	11	11	11	12	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	12	22	12	22	12	22	11	22	22	22	11	22	22	12	22	12	22	
370	22	22	12	12	11	22	22	11	11	22	12	11	11	11	22	12	22	11	22	11	11	12	11	11	11	12	11	22	22	12	12	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	22	12	22	12	12	
371	12	22	22	22	11	22	22	11	11	22	22	22	22	11	22	22	22	11	22	11	12	11	11	11	11	11	22	22	22	11	22	12	12	22	22	11	22	12	11	11	22	11	12	22	12	22	
372	22	12	12	12	11	22	12	12	11	22	12	12	11	11	22	11	12	22	11	22	11	12	12	11	11	11	12	22	22	12	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	12	11	22	12	22	12	
373	22	12	22	12	11	22	22	11	11	22	22	12	12	12	22	12	22	11	22	11	12	12	12	11	11	12	22	22	12	22	22	12	22	22	22	12	22	22	12	11	12	11	12	22	12	12	
374	22	12	12	22	11	22	12	11	11	22	22	12	12	22	22	12	22	12	22	12	12	11	11	11	11	12	22																				

	1470	777	196	881	3122	548	659	2011	2929	593	798	1193	1871	17	2538	1644	3854	2275	94	3072	772	2313	397	1636	51	2431	2264	2256	128	15	2241	419	943	159	2005	250	1802	1607	1734	406	1386	1726	3626	360	1603	2719	
376	22	12	11	11	11	11	22	11	12	22	12	22	11	12	22	11	22	11	22	11	12	12	12	11	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	12	12	11	12	11	22	22	12	11	
379	22	11	12	11	11	22	12	12	12	22	22	12	12	11	22	12	22	11	22	11	11	11	12	11	12	11	22	22	22	12	22	22	22	22	22	11	22	22	11	11	22	12	22	12	11	12	
380	22	12	12	11	11	22	11	11	11	22	12	12	12	12	22	22	22	12	22	11	11	11	22	11	12	12	22	22	22	12	22	22	22	22	12	11	22	22	11	11	22	11	22	22	12	11	
381	12	12	11	11	11	12	12	11	11	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	11	11	11	11	12	12	12	12	12	22	22	22	22	22	12	22	22	12	22	11	12	11	22	11	22	12	22	11
382	12	11	12	12	11	12	22	22	11	22	12	12	22	11	12	12	22	11	22	11	12	11	22	11	11	11	22	22	22	12	22	22	12	22	12	11	22	22	22	11	22	12	22	12	12	22	
383	12	11	12	22	11	12	12	11	11	22	22	22	11	12	22	22	22	11	22	11	22	12	12	11	11	12	22	22	22	11	22	22	22	12	12	11	22	22	12	11	12	12	22	12	12	11	
384	12	12	12	11	11	12	12	22	11	22	22	12	11	11	22	12	22	11	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	22	22	22	11	12	11	12	22	12	11	
385	11	12	11	11	11	12	12	12	11	22	12	22	11	12	22	22	22	11	22	11	11	11	22	11	11	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	11	22	22	12	11	22	12	22	22	22	11	
386	22	12	22	12	11	12	11	12	11	22	22	11	12	22	22	12	22	11	22	11	11	12	22	11	12	11	22	22	22	12	12	12	12	12	22	11	22	22	22	11	22	11	22	11	22	12	11
387	11	12	22	11	11	22	11	12	11	22	12	22	11	22	12	22	22	11	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	12	11	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11	12	11	22	12	22	11	
388	12	12	12	11	11	22	22	12	11	22	22	22	12	12	22	22	22	12	22	11	12	11	12	11	11	11	22	22	12	12	22	22	22	22	22	22	22	12	11	11	22	12	22	22	12	12	
389	12	11	12	11	11	22	22	12	11	22	22	22	12	22	22	12	12	11	22	11	11	22	12	11	11	12	22	22	12	12	22	11	12	22	22	11	22	22	12	11	12	11	22	22	11	11	
390	12	22	12	11	11	12	22	11	11	22	12	22	12	11	22	22	12	11	22	11	11	11	12	11	11	12	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	22	12	11	22	11	22	22	11	11		
391	12	11	22	22	11	12	22	11	11	22	12	22	11	12	22	12	22	11	22	11	11	11	22	12	11	12	22	22	12	22	22	22	22	22	22	12	22	22	12	11	11	12	22	22	22	12	
392	22	11	12	11	11	22	22	11	11	22	22	22	11	11	22	12	22	11	22	11	22	11	12	11	11	12	22	22	22	22	22	12	12	22	??	11	22	22	12	12	22	11	12	22	22	11	
393	22	12	12	12	12	22	22	11	11	22	22	22	11	22	22	22	22	22	22	11	12	11	11	11	11	12	22	22	22	22	22	22	22	22	22	12	11	22	12	11	22	12	11	22	11		
394	22	11	12	??	11	22	12	11	11	22	22	??	12	11	22	12	22	11	22	11	12	11	12	11	11	11	22	12	22	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	11	11	11	22	22	22	11	

Anexo 2 – Análise de *Linkage Disequilibrium* par a par para a população das Filipinas.

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID1470 / MID777	0,96579	MID1470 / MID798	0,21701	MID1871 / MID17	0,27468
MID1470 / MID196	0,15836	MID777 / MID798	0,65787	MID1470 / MID2538	0,09873
MID777 / MID196	0,91398	MID196 / MID798	0,59042	MID777 / MID2538	0,78495
MID1470 / MID881	0,48289	MID881 / MID798	0,96188	MID196 / MID2538	0,03617*
MID777 / MID881	0,17986	MID3122 / MID798	1,00000	MID881 / MID2538	0,26979
MID196 / MID881	0,00098*	MID548 / MID798	0,04008*	MID3122 / MID2538	1,00000
MID1470 / MID3122	1,00000	MID659 / MID798	0,88759	MID548 / MID2538	0,44575
MID777 / MID3122	0,9824	MID2011 / MID798	0,56598	MID659 / MID2538	0,89443
MID196 / MID3122	0,63343	MID2929 / MID798	0,21408	MID2011 / MID2538	0,87586
MID881 / MID3122	0,34311	MID593 / MID798	0,73803	MID2929 / MID2538	0,16129
MID1470 / MID548	0,30401	MID1470 / MID1193	0,5826	MID593 / MID2538	1,00000
MID777 / MID548	0,69795	MID777 / MID1193	0,15445	MID798 / MID2538	0,42326
MID196 / MID548	0,96774	MID196 / MID1193	0,86999	MID1193 / MID2538	0,84457
MID881 / MID548	0,13587	MID881 / MID1193	0,00000**	MID1871 / MID2538	0,93939
MID3122 / MID548	1,00000	MID3122 / MID1193	1,00000	MID17 / MID2538	0,95797
MID1470 / MID659	0,19257	MID548 / MID1193	0,72532	MID1470 / MID1644	0,28641
MID777 / MID659	0,98631	MID659 / MID1193	0,86119	MID777 / MID1644	0,91300
MID196 / MID659	0,22483	MID2011 / MID1193	0,0958	MID196 / MID1644	0,57967
MID881 / MID659	0,21799	MID2929 / MID1193	0,52493	MID881 / MID1644	0,73509
MID3122 / MID659	0,50733	MID593 / MID1193	0,31085	MID3122 / MID1644	1,00000
MID548 / MID659	0,62854	MID798 / MID1193	0,93451	MID548 / MID1644	0,13392
MID1470 / MID2011	0,96676	MID1470 / MID1871	0,28446	MID659 / MID1644	0,05083
MID777 / MID2011	0,54545	MID777 / MID1871	0,17302	MID2011 / MID1644	0,10459
MID196 / MID2011	0,55621	MID196 / MID1871	0,13881	MID2929 / MID1644	0,02933*
MID881 / MID2011	0,73021	MID881 / MID1871	0,91984	MID593 / MID1644	0,00587*
MID3122 / MID2011	1,00000	MID3122 / MID1871	1,00000	MID798 / MID1644	0,05963
MID548 / MID2011	0,59726	MID548 / MID1871	0,6217	MID1193 / MID1644	0,91398
MID659 / MID2011	0,16129	MID659 / MID1871	0,69892	MID1871 / MID1644	0,00000**
MID1470 / MID2929	0,45259	MID2011 / MID1871	0,90029	MID17 / MID1644	0,32160
MID777 / MID2929	0,84164	MID2929 / MID1871	0,30499	MID2538 / MID1644	0,35777
MID196 / MID2929	0,47019	MID593 / MID1871	0,00196*	MID1470 / MID3854	0,02248*
MID881 / MID2929	0,5259	MID798 / MID1871	0,56500	MID777 / MID3854	0,86608
MID3122 / MID2929	1,00000	MID1193 / MID1871	0,60313	MID196 / MID3854	0,64614
MID548 / MID2929	0,12219	MID1470 / MID17	0,4741	MID881 / MID3854	0,63245
MID659 / MID2929	0,12317	MID777 / MID17	0,88368	MID3122 / MID3854	1,00000
MID2011 / MID2929	0,52493	MID196 / MID17	0,67546	MID548 / MID3854	0,34800
MID1470 / MID593	1,00000	MID881 / MID17	0,43402	MID659 / MID3854	0,88954
MID777 / MID593	0,99511	MID3122 / MID17	0,11828	MID2011 / MID3854	0,82307
MID196 / MID593	0,77810	MID548 / MID17	0,04985*	MID2929 / MID3854	0,01564*
MID881 / MID593	0,77615	MID659 / MID17	0,81232	MID593 / MID3854	0,22581
MID3122 / MID593	1,00000	MID2011 / MID17	0,56207	MID798 / MID3854	0,16031
MID548 / MID593	0,14370	MID2929 / MID17	0,46139	MID1193 / MID3854	0,16716
MID659 / MID593	0,27859	MID593 / MID17	0,79081	MID1871 / MID3854	0,02346*
MID2011 / MID593	1,00000	MID798 / MID17	0,21994	MID17 / MID3854	0,45552
MID2929 / MID593	1,00000	MID1193 / MID17	0,50929	MID2538 / MID3854	0,83578

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID1644 / MID3854	0,26393	MID1193 / MID3072	0,44770	MID3072 / MID2313	0,90518
MID1470 / MID2275	0,25318	MID1871 / MID3072	0,54839	MID772 / MID2313	0,04985*
MID777 / MID2275	0,78201	MID17 / MID3072	0,38514	MID1470 / MID397	0,38710
MID196 / MID2275	0,37537	MID2538 / MID3072	1,00000	MID777 / MID397	0,55621
MID881 / MID2275	0,53275	MID1644 / MID3072	0,10459	MID196 / MID397	0,82111
MID3122 / MID2275	0,06843	MID3854 / MID3072	0,37830	MID881 / MID397	0,97458
MID548 / MID2275	0,84066	MID2275 / MID3072	0,36755	MID3122 / MID397	0,53079
MID659 / MID2275	0,82991	MID94 / MID3072	0,90811	MID548 / MID397	0,66569
MID2011 / MID2275	0,08407	MID1470 / MID772	0,15152	MID659 / MID397	0,44379
MID2929 / MID2275	0,17498	MID777 / MID772	0,62072	MID2011 / MID397	0,88465
MID593 / MID2275	0,00978*	MID196 / MID772	0,16520	MID2929 / MID397	0,87586
MID798 / MID2275	0,06452	MID881 / MID772	0,83675	MID593 / MID397	0,60215
MID1193 / MID2275	0,05474	MID3122 / MID772	0,71359	MID798 / MID397	0,39883
MID1871 / MID2275	0,11926	MID548 / MID772	0,27957	MID1193 / MID397	0,16520
MID17 / MID2275	0,87292	MID659 / MID772	0,55425	MID1871 / MID397	0,00000**
MID2538 / MID2275	0,46139	MID2011 / MID772	0,13881	MID17 / MID397	0,07918
MID1644 / MID2275	0,36852	MID2929 / MID772	0,07038	MID2538 / MID397	0,39198
MID3854 / MID2275	0,39883	MID593 / MID772	0,98631	MID1644 / MID397	0,05767
MID1470 / MID94	0,03617*	MID798 / MID772	0,25904	MID3854 / MID397	0,01173*
MID777 / MID94	0,12708	MID1193 / MID772	0,04594*	MID2275 / MID397	0,62561
MID196 / MID94	0,54936	MID1871 / MID772	0,52688	MID94 / MID397	0,15640
MID881 / MID94	0,21603	MID17 / MID772	0,93060	MID3072 / MID397	0,43793
MID3122 / MID94	1,00000	MID2538 / MID772	0,61388	MID772 / MID397	0,32747
MID548 / MID94	0,35288	MID1644 / MID772	0,60020	MID2313 / MID397	0,35093
MID659 / MID94	0,52884	MID3854 / MID772	0,03617*	MID1470 / MID1636	0,23363
MID2011 / MID94	0,77713	MID2275 / MID772	0,82991	MID777 / MID1636	0,30890
MID2929 / MID94	0,97947	MID94 / MID772	0,99609	MID196 / MID1636	0,49169
MID593 / MID94	1,00000	MID3072 / MID772	0,43597	MID881 / MID1636	0,18671
MID798 / MID94	0,06843	MID1470 / MID2313	0,27175	MID3122 / MID1636	1,00000
MID1193 / MID94	0,61388	MID777 / MID2313	0,83675	MID548 / MID1636	0,96188
MID1871 / MID94	0,24242	MID196 / MID2313	0,82991	MID659 / MID1636	0,47410
MID17 / MID94	0,44379	MID881 / MID2313	0,84164	MID2011 / MID1636	0,19159
MID2538 / MID94	0,02444*	MID3122 / MID2313	1,00000	MID2929 / MID1636	0,50635
MID1644 / MID94	0,1261	MID548 / MID2313	0,79961	MID593 / MID1636	0,09286
MID3854 / MID94	0,17302	MID659 / MID2313	0,96579	MID798 / MID1636	0,55425
MID2275 / MID94	0,61681	MID2011 / MID2313	0,66276	MID1193 / MID1636	0,57771
MID1470 / MID3072	0,44673	MID2929 / MID2313	0,25806	MID1871 / MID1636	0,31183
MID777 / MID3072	0,14076	MID593 / MID2313	0,33627	MID17 / MID1636	0,09677
MID196 / MID3072	0,60997	MID798 / MID2313	0,85533	MID2538 / MID1636	0,86022
MID881 / MID3072	0,99609	MID1193 / MID2313	0,57478	MID1644 / MID1636	0,03421*
MID3122 / MID3072	1,00000	MID1871 / MID2313	0,80743	MID3854 / MID1636	0,56794
MID548 / MID3072	0,56109	MID17 / MID2313	0,51613	MID2275 / MID1636	0,24927
MID659 / MID3072	0,34800	MID2538 / MID2313	0,50831	MID94 / MID1636	0,69208
MID2011 / MID3072	0,56500	MID1644 / MID2313	0,50635	MID3072 / MID1636	0,43597
MID2929 / MID3072	1,00000	MID3854 / MID2313	0,25220	MID772 / MID1636	0,91105
MID593 / MID3072	0,01662*	MID2275 / MID2313	0,47898	MID2313 / MID1636	0,04106*
MID798 / MID3072	0,39296	MID94 / MID2313	0,79765	MID397 / MID1636	0,38514

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID1470 / MID51	0,36755	MID1636 / MID2431	0,99022	MID3072 / MID2256	0,10655
MID777 / MID51	0,55523	MID51 / MID2431	0,37732	MID772 / MID2256	0,48778
MID196 / MID51	0,33920	MID1470 / MID2264	0,97263	MID2313 / MID2256	0,74878
MID881 / MID51	0,38221	MID777 / MID2264	0,77713	MID397 / MID2256	0,09189
MID3122 / MID51	1,00000	MID196 / MID2264	0,92375	MID1636 / MID2256	0,56794
MID548 / MID51	0,03519*	MID881 / MID2264	0,40469	MID51 / MID2256	0,57869
MID659 / MID51	0,14956	MID3122 / MID2264	1,00000	MID2431 / MID2256	0,54057
MID2011 / MID51	0,94526	MID548 / MID2264	0,17595	MID2264 / MID2256	0,94037
MID2929 / MID51	0,06745	MID659 / MID2264	0,30987	MID1470 / MID128	0,28446
MID593 / MID51	1,00000	MID2011 / MID2264	0,73803	MID777 / MID128	0,63734
MID798 / MID51	0,07918	MID2929 / MID2264	0,73314	MID196 / MID128	0,52102
MID1193 / MID51	0,70283	MID593 / MID2264	0,00000**	MID881 / MID128	0,23949
MID1871 / MID51	0,48485	MID798 / MID2264	0,54545	MID3122 / MID128	1,00000
MID17 / MID51	0,41935	MID1193 / MID2264	0,35484	MID548 / MID128	0,82014
MID2538 / MID51	1,00000	MID1871 / MID2264	0,72434	MID659 / MID128	0,28641
MID1644 / MID51	0,21799	MID17 / MID2264	0,82991	MID2011 / MID128	0,47507
MID3854 / MID51	0,14565	MID2538 / MID2264	0,40274	MID2929 / MID128	0,92278
MID2275 / MID51	0,96970	MID1644 / MID2264	0,36852	MID593 / MID128	1,00000
MID94 / MID51	0,04692*	MID3854 / MID2264	0,14272	MID798 / MID128	0,98338
MID3072 / MID51	0,66276	MID2275 / MID2264	0,02248*	MID1193 / MID128	0,92473
MID772 / MID51	0,88661	MID94 / MID2264	0,99707	MID1871 / MID128	0,66862
MID2313 / MID51	0,17791	MID3072 / MID2264	0,02346*	MID17 / MID128	0,91398
MID397 / MID51	0,34897	MID772 / MID2264	0,63734	MID2538 / MID128	0,26588
MID1636 / MID51	0,60313	MID2313 / MID2264	0,36852	MID1644 / MID128	0,09091
MID1470 / MID2431	0,07136	MID397 / MID2264	0,69990	MID3854 / MID128	0,22874
MID777 / MID2431	0,61193	MID1636 / MID2264	0,47019	MID2275 / MID128	0,19844
MID196 / MID2431	0,64027	MID51 / MID2264	0,65396	MID94 / MID128	0,50635
MID881 / MID2431	0,07136	MID2431 / MID2264	0,26100	MID3072 / MID128	0,94233
MID3122 / MID2431	0,67937	MID1470 / MID2256	0,17889	MID772 / MID128	0,96676
MID548 / MID2431	0,84946	MID777 / MID2256	0,77713	MID2313 / MID128	0,37341
MID659 / MID2431	0,00000**	MID196 / MID2256	0,60704	MID397 / MID128	0,72141
MID2011 / MID2431	0,08113	MID881 / MID2256	0,45748	MID1636 / MID128	0,69990
MID2929 / MID2431	0,30890	MID3122 / MID2256	1,00000	MID51 / MID128	0,99707
MID593 / MID2431	0,78397	MID548 / MID2256	0,73803	MID2431 / MID128	0,99804
MID798 / MID2431	0,13587	MID659 / MID2256	0,71261	MID2264 / MID128	0,30987
MID1193 / MID2431	0,63148	MID2011 / MID2256	0,81720	MID2256 / MID128	0,98338
MID1871 / MID2431	0,31769	MID2929 / MID2256	0,99316	MID1470 / MID15	0,65787
MID17 / MID2431	0,82502	MID593 / MID2256	1,00000	MID777 / MID15	0,63930
MID2538 / MID2431	0,02053*	MID798 / MID2256	0,71261	MID196 / MID15	0,57380
MID1644 / MID2431	0,48485	MID1193 / MID2256	0,17498	MID881 / MID15	0,92278
MID3854 / MID2431	0,67742	MID1871 / MID2256	0,89443	MID3122 / MID15	1,00000
MID2275 / MID2431	0,64614	MID17 / MID2256	0,25318	MID548 / MID15	0,57283
MID94 / MID2431	0,99413	MID2538 / MID2256	0,63734	MID659 / MID15	0,07722
MID3072 / MID2431	0,01955*	MID1644 / MID2256	0,39003	MID2011 / MID15	0,49267
MID772 / MID2431	0,94819	MID3854 / MID2256	0,49658	MID2929 / MID15	0,93353
MID2313 / MID2431	0,17107	MID2275 / MID2256	0,42815	MID593 / MID15	0,55034
MID397 / MID2431	0,96579	MID94 / MID2256	0,00000**	MID798 / MID15	0,57185

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID1193 / MID15	0,69110	MID15 / MID2241	0,46432	MID1644 / MID943	0,66276
MID1871 / MID15	0,00000**	MID1470 / MID419	0,46334	MID3854 / MID943	0,34995
MID17 / MID15	0,07625	MID777 / MID419	0,39785	MID2275 / MID943	0,44379
MID2538 / MID15	0,98534	MID196 / MID419	0,72727	MID94 / MID943	0,41447
MID1644 / MID15	0,04692*	MID881 / MID419	0,64321	MID3072 / MID943	0,25415
MID3854 / MID15	0,05181	MID3122 / MID419	1,00000	MID772 / MID943	0,34506
MID2275 / MID15	0,73118	MID548 / MID419	0,84653	MID2313 / MID943	0,00098*
MID94 / MID15	0,84946	MID659 / MID419	0,94624	MID397 / MID943	0,92473
MID3072 / MID15	0,33724	MID2011 / MID419	0,71554	MID1636 / MID943	0,78886
MID772 / MID15	0,62854	MID2929 / MID419	0,52688	MID51 / MID943	0,04106*
MID2313 / MID15	0,38025	MID593 / MID419	0,71848	MID2431 / MID943	0,36070
MID397 / MID15	0,00000**	MID798 / MID419	1,00000	MID2264 / MID943	0,57674
MID1636 / MID15	0,64614	MID1193 / MID419	0,80352	MID2256 / MID943	0,54643
MID51 / MID15	0,80352	MID1871 / MID419	0,84751	MID128 / MID943	0,96090
MID2431 / MID15	0,53372	MID17 / MID419	0,63930	MID15 / MID943	0,46725
MID2264 / MID15	0,46823	MID2538 / MID419	0,99120	MID2241 / MID943	0,47605
MID2256 / MID15	0,10948	MID1644 / MID419	0,48974	MID419 / MID943	0,31769
MID128 / MID15	0,62561	MID3854 / MID419	0,24438	MID1470 / MID159	0,23363
MID1470 / MID2241	0,02933*	MID2275 / MID419	0,28641	MID777 / MID159	0,72141
MID777 / MID2241	0,43109	MID94 / MID419	0,68915	MID196 / MID159	0,41349
MID196 / MID2241	0,98338	MID3072 / MID419	0,13001	MID881 / MID159	0,66764
MID881 / MID2241	0,41447	MID772 / MID419	0,34018	MID3122 / MID159	1,00000
MID3122 / MID2241	1,00000	MID2313 / MID419	0,25709	MID548 / MID159	0,63050
MID548 / MID2241	0,13587	MID397 / MID419	0,84360	MID659 / MID159	0,56109
MID659 / MID2241	0,89247	MID1636 / MID419	0,45357	MID2011 / MID159	0,36755
MID2011 / MID2241	0,07918	MID51 / MID419	0,47410	MID2929 / MID159	0,41838
MID2929 / MID2241	0,91691	MID2431 / MID419	0,16325	MID593 / MID159	0,10459
MID593 / MID2241	0,15445	MID2264 / MID419	0,52884	MID798 / MID159	0,32160
MID798 / MID2241	0,06549	MID2256 / MID419	0,39296	MID1193 / MID159	0,35191
MID1193 / MID2241	0,03421*	MID128 / MID419	0,90518	MID1871 / MID159	0,95894
MID1871 / MID2241	0,29521	MID15 / MID419	0,24927	MID17 / MID159	0,24438
MID17 / MID2241	0,15445	MID2241 / MID419	0,69013	MID2538 / MID159	1,00000
MID2538 / MID2241	0,85435	MID1470 / MID943	0,48094	MID1644 / MID159	0,43011
MID1644 / MID2241	0,22190	MID777 / MID943	0,02248*	MID3854 / MID159	0,21603
MID3854 / MID2241	0,43988	MID196 / MID943	0,63441	MID2275 / MID159	0,70772
MID2275 / MID2241	0,98338	MID881 / MID943	0,95503	MID94 / MID159	0,73998
MID94 / MID2241	0,33236	MID3122 / MID943	1,00000	MID3072 / MID159	0,04985*
MID3072 / MID2241	0,11339	MID548 / MID943	0,64321	MID772 / MID159	0,60411
MID772 / MID2241	0,07625	MID659 / MID943	0,78201	MID2313 / MID159	0,26393
MID2313 / MID2241	0,21505	MID2011 / MID943	0,00196*	MID397 / MID159	0,82991
MID397 / MID2241	0,00391*	MID2929 / MID943	0,65689	MID1636 / MID159	0,70772
MID1636 / MID2241	0,86413	MID593 / MID943	0,72141	MID51 / MID159	0,51515
MID51 / MID2241	0,35288	MID798 / MID943	0,93548	MID2431 / MID159	0,01369*
MID2431 / MID2241	0,05963	MID1193 / MID943	0,58260	MID2264 / MID159	0,08016
MID2264 / MID2241	0,20821	MID1871 / MID943	0,67742	MID2256 / MID159	0,94330
MID2256 / MID2241	0,59531	MID17 / MID943	0,31672	MID128 / MID159	0,70674
MID128 / MID2241	0,58847	MID2538 / MID943	0,57674	MID15 / MID159	0,99902

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID2241 / MID159	0,84653	MID798 / MID250	0,81036	MID397 / MID1802	1,00000
MID419 / MID159	0,60508	MID1193 / MID250	0,28348	MID1636 / MID1802	1,00000
MID943 / MID159	0,68133	MID1871 / MID250	0,73314	MID51 / MID1802	1,00000
MID1470 / MID2005	0,57771	MID17 / MID250	0,33822	MID2431 / MID1802	1,00000
MID777 / MID2005	0,86510	MID2538 / MID250	0,09677	MID2264 / MID1802	1,00000
MID196 / MID2005	0,86510	MID1644 / MID250	0,49365	MID2256 / MID1802	1,00000
MID881 / MID2005	0,53959	MID3854 / MID250	0,42913	MID128 / MID1802	1,00000
MID3122 / MID2005	0,04985*	MID2275 / MID250	0,59629	MID15 / MID1802	1,00000
MID548 / MID2005	0,65200	MID94 / MID250	0,54350	MID2241 / MID1802	1,00000
MID659 / MID2005	0,45943	MID3072 / MID250	0,45943	MID419 / MID1802	1,00000
MID2011 / MID2005	0,29326	MID772 / MID250	0,02542*	MID943 / MID1802	1,00000
MID2929 / MID2005	0,76735	MID2313 / MID250	0,02933*	MID159 / MID1802	1,00000
MID593 / MID2005	0,74976	MID397 / MID250	0,30401	MID2005 / MID1802	1,00000
MID798 / MID2005	0,65885	MID1636 / MID250	0,09091	MID250 / MID1802	1,00000
MID1193 / MID2005	0,23363	MID51 / MID250	0,64223	MID1470 / MID1607	0,51124
MID1871 / MID2005	0,60117	MID2431 / MID250	0,02737*	MID777 / MID1607	0,36364
MID17 / MID2005	0,79472	MID2264 / MID250	0,24633	MID196 / MID1607	0,09189
MID2538 / MID2005	0,93353	MID2256 / MID250	0,68035	MID881 / MID1607	0,17009
MID1644 / MID2005	0,86315	MID128 / MID250	0,99902	MID3122 / MID1607	0,14663
MID3854 / MID2005	0,30792	MID15 / MID250	0,34409	MID548 / MID1607	0,81916
MID2275 / MID2005	0,81623	MID2241 / MID250	0,40860	MID659 / MID1607	0,08602
MID94 / MID2005	0,71945	MID419 / MID250	0,90518	MID2011 / MID1607	0,54350
MID3072 / MID2005	0,16520	MID943 / MID250	0,84164	MID2929 / MID1607	0,56696
MID772 / MID2005	0,27468	MID159 / MID250	0,69208	MID593 / MID1607	1,00000
MID2313 / MID2005	0,29912	MID2005 / MID250	0,43109	MID798 / MID1607	0,4174
MID397 / MID2005	0,79472	MID1470 / MID1802	1,00000	MID1193 / MID1607	0,34800
MID1636 / MID2005	0,78886	MID777 / MID1802	1,00000	MID1871 / MID1607	0,65396
MID51 / MID2005	0,51026	MID196 / MID1802	1,00000	MID17 / MID1607	0,24536
MID2431 / MID2005	0,10362	MID881 / MID1802	1,00000	MID2538 / MID1607	0,94233
MID2264 / MID2005	0,84555	MID3122 / MID1802	1,00000	MID1644 / MID1607	0,08504
MID2256 / MID2005	0,08504	MID548 / MID1802	1,00000	MID3854 / MID1607	0,16325
MID128 / MID2005	0,70381	MID659 / MID1802	1,00000	MID2275 / MID1607	0,85630
MID15 / MID2005	0,18475	MID2011 / MID1802	1,00000	MID94 / MID1607	0,68231
MID2241 / MID2005	0,00000**	MID2929 / MID1802	1,00000	MID3072 / MID1607	0,22190
MID419 / MID2005	0,97165	MID593 / MID1802	1,00000	MID772 / MID1607	0,05181
MID943 / MID2005	0,65787	MID798 / MID1802	1,00000	MID2313 / MID1607	0,13294
MID159 / MID2005	0,10948	MID1193 / MID1802	1,00000	MID397 / MID1607	0,69795
MID1470 / MID250	0,44086	MID1871 / MID1802	1,00000	MID1636 / MID1607	0,62170
MID777 / MID250	0,81427	MID17 / MID1802	1,00000	MID51 / MID1607	0,53079
MID196 / MID250	0,66667	MID2538 / MID1802	1,00000	MID2431 / MID1607	0,96188
MID881 / MID250	0,19159	MID1644 / MID1802	1,00000	MID2264 / MID1607	0,13294
MID3122 / MID250	1,00000	MID3854 / MID1802	1,00000	MID2256 / MID1607	0,88074
MID548 / MID250	0,53275	MID2275 / MID1802	1,00000	MID128 / MID1607	0,31965
MID659 / MID250	0,05279	MID94 / MID1802	1,00000	MID15 / MID1607	0,71359
MID2011 / MID250	0,67742	MID3072 / MID1802	1,00000	MID2241 / MID1607	0,23754
MID2929 / MID250	0,43206	MID772 / MID1802	1,00000	MID419 / MID1607	0,57185
MID593 / MID250	0,69599	MID2313 / MID1802	1,00000	MID943 / MID1607	0,87586

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID159 / MID1607	0,10557	MID548 / MID406	0,66862	MID17 / MID1386	0,48974
MID2005 / MID1607	0,36950	MID659 / MID406	0,70381	MID2538 / MID1386	0,13196
MID250 / MID1607	0,59531	MID2011 / MID406	0,72727	MID1644 / MID1386	0,67644
MID1802 / MID1607	1,00000	MID2929 / MID406	0,21799	MID3854 / MID1386	0,26295
MID1470 / MID1734	0,99120	MID593 / MID406	0,11437	MID2275 / MID1386	0,40176
MID777 / MID1734	0,01857*	MID798 / MID406	0,04594*	MID94 / MID1386	0,49658
MID196 / MID1734	0,36852	MID1193 / MID406	0,25513	MID3072 / MID1386	0,55816
MID881 / MID1734	0,40176	MID1871 / MID406	0,01369*	MID772 / MID1386	0,97067
MID3122 / MID1734	0,51026	MID17 / MID406	0,39394	MID2313 / MID1386	0,52981
MID548 / MID1734	0,77615	MID2538 / MID406	0,58944	MID397 / MID1386	0,25806
MID659 / MID1734	0,81427	MID1644 / MID406	0,52590	MID1636 / MID1386	0,30987
MID2011 / MID1734	0,90714	MID3854 / MID406	0,58358	MID51 / MID1386	0,10166
MID2929 / MID1734	0,74389	MID2275 / MID406	0,09091	MID2431 / MID1386	0,55718
MID593 / MID1734	0,98240	MID94 / MID406	0,89247	MID2264 / MID1386	0,02933*
MID798 / MID1734	0,10459	MID3072 / MID406	0,43109	MID2256 / MID1386	0,39198
MID1193 / MID1734	0,38221	MID772 / MID406	0,29130	MID128 / MID1386	0,07918
MID1871 / MID1734	0,66373	MID2313 / MID406	0,32258	MID15 / MID1386	0,36657
MID17 / MID1734	0,18084	MID397 / MID406	0,01075*	MID2241 / MID1386	0,70381
MID2538 / MID1734	0,25709	MID1636 / MID406	0,68524	MID419 / MID1386	0,48583
MID1644 / MID1734	0,97361	MID51 / MID406	0,96872	MID943 / MID1386	0,70968
MID3854 / MID1734	0,01075*	MID2431 / MID406	0,51711	MID159 / MID1386	0,28641
MID2275 / MID1734	0,1828	MID2264 / MID406	0,41838	MID2005 / MID1386	0,84946
MID94 / MID1734	0,29228	MID2256 / MID406	0,66764	MID250 / MID1386	0,1828
MID3072 / MID1734	0,05572	MID128 / MID406	0,90420	MID1802 / MID1386	1,00000
MID772 / MID1734	0,11632	MID15 / MID406	0,01564*	MID1607 / MID1386	0,12121
MID2313 / MID1734	0,33333	MID2241 / MID406	0,28935	MID1734 / MID1386	0,32356
MID397 / MID1734	0,09873	MID419 / MID406	0,43695	MID406 / MID1386	0,29717
MID1636 / MID1734	0,06843	MID943 / MID406	0,78983	MID1470 / MID1726	0,28935
MID51 / MID1734	0,16422	MID159 / MID406	0,76051	MID777 / MID1726	0,94428
MID2431 / MID1734	0,49169	MID2005 / MID406	0,17498	MID196 / MID1726	0,43206
MID2264 / MID1734	0,83871	MID250 / MID406	0,10948	MID881 / MID1726	0,13294
MID2256 / MID1734	0,81329	MID1802 / MID406	1,00000	MID3122 / MID1726	0,32063
MID128 / MID1734	0,29717	MID1607 / MID406	0,57185	MID548 / MID1726	0,13587
MID15 / MID1734	0,40078	MID1734 / MID406	0,09677	MID659 / MID1726	0,77126
MID2241 / MID1734	0,00000**	MID1470 / MID1386	0,01075*	MID2011 / MID1726	0,72825
MID419 / MID1734	0,88759	MID777 / MID1386	0,70870	MID2929 / MID1726	0,27468
MID943 / MID1734	0,43793	MID196 / MID1386	0,12219	MID593 / MID1726	0,18866
MID159 / MID1734	0,39492	MID881 / MID1386	0,73021	MID798 / MID1726	0,86413
MID2005 / MID1734	0,00293*	MID3122 / MID1386	1,00000	MID1193 / MID1726	0,00684*
MID250 / MID1734	0,08504	MID548 / MID1386	0,32649	MID1871 / MID1726	0,90029
MID1802 / MID1734	1,00000	MID659 / MID1386	0,88856	MID17 / MID1726	0,56891
MID1607 / MID1734	0,05865	MID2011 / MID1386	0,42522	MID2538 / MID1726	0,60117
MID1470 / MID406	0,80938	MID2929 / MID1386	0,16618	MID1644 / MID1726	0,58162
MID777 / MID406	0,37634	MID593 / MID1386	0,33236	MID3854 / MID1726	0,35484
MID196 / MID406	0,00000**	MID798 / MID1386	0,62952	MID2275 / MID1726	0,43500
MID881 / MID406	0,00196*	MID1193 / MID1386	0,02835*	MID94 / MID1726	0,92278
MID3122 / MID406	1,00000	MID1871 / MID1386	0,95406	MID3072 / MID1726	0,35288

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID772 / MID1726	0,88074	MID2264 / MID3626	0,52199	MID419 / MID360	0,18768
MID2313 / MID1726	0,43011	MID2256 / MID3626	0,78397	MID943 / MID360	0,91007
MID397 / MID1726	0,35582	MID128 / MID3626	0,27859	MID159 / MID360	0,08113
MID1636 / MID1726	0,29423	MID15 / MID3626	0,92962	MID2005 / MID360	0,82307
MID51 / MID1726	0,34506	MID2241 / MID3626	0,02151*	MID250 / MID360	0,14467
MID2431 / MID1726	0,54936	MID419 / MID3626	0,42326	MID1802 / MID360	1,00000
MID2264 / MID1726	0,38612	MID943 / MID3626	0,65298	MID1607 / MID360	0,67253
MID2256 / MID1726	0,73314	MID159 / MID3626	0,41740	MID1734 / MID360	0,02053*
MID128 / MID1726	0,65005	MID2005 / MID3626	0,43402	MID406 / MID360	0,23460
MID15 / MID1726	0,64907	MID250 / MID3626	0,41642	MID1386 / MID360	0,54741
MID2241 / MID1726	0,67253	MID1802 / MID3626	1,00000	MID1726 / MID360	0,78495
MID419 / MID1726	0,54643	MID1607 / MID3626	0,6999	MID3626 / MID360	0,35093
MID943 / MID1726	0,78397	MID1734 / MID3626	0,36364	MID1470 / MID1603	0,00978*
MID159 / MID1726	0,86999	MID406 / MID3626	0,82502	MID777 / MID1603	0,16911
MID2005 / MID1726	0,23656	MID1386 / MID3626	0,65787	MID196 / MID1603	0,25024
MID250 / MID1726	0,8827	MID1726 / MID3626	0,98240	MID881 / MID1603	0,11730
MID1802 / MID1726	1,00000	MID1470 / MID360	0,23754	MID3122 / MID1603	0,52004
MID1607 / MID1726	0,11144	MID777 / MID360	0,19941	MID548 / MID1603	0,27566
MID1734 / MID1726	0,76246	MID196 / MID360	0,37048	MID659 / MID1603	0,36657
MID406 / MID1726	0,51124	MID881 / MID360	0,99804	MID2011 / MID1603	0,10948
MID1386 / MID1726	0,45161	MID3122 / MID360	1,00000	MID2929 / MID1603	0,12317
MID1470 / MID3626	0,17986	MID548 / MID360	0,82502	MID593 / MID1603	0,97849
MID777 / MID3626	0,33822	MID659 / MID360	0,34409	MID798 / MID1603	0,41935
MID196 / MID3626	0,24927	MID2011 / MID360	0,74096	MID1193 / MID1603	0,37341
MID881 / MID3626	0,19648	MID2929 / MID360	0,99413	MID1871 / MID1603	0,93646
MID3122 / MID3626	0,06061	MID593 / MID360	0,74291	MID17 / MID1603	0,48387
MID548 / MID3626	0,30890	MID798 / MID360	0,46334	MID2538 / MID1603	0,50635
MID659 / MID3626	0,45846	MID1193 / MID360	0,83480	MID1644 / MID1603	0,90323
MID2011 / MID3626	0,28055	MID1871 / MID360	0,84555	MID3854 / MID1603	0,55816
MID2929 / MID3626	0,01075*	MID17 / MID360	0,23754	MID2275 / MID1603	0,43402
MID593 / MID3626	0,56989	MID2538 / MID360	0,28055	MID94 / MID1603	0,93255
MID798 / MID3626	0,97458	MID1644 / MID360	0,66667	MID3072 / MID1603	0,44477
MID1193 / MID3626	0,06061	MID3854 / MID360	0,24340	MID772 / MID1603	0,69208
MID1871 / MID3626	0,72727	MID2275 / MID360	0,27761	MID2313 / MID1603	0,06940
MID17 / MID3626	0,00000**	MID94 / MID360	0,34311	MID397 / MID1603	0,89932
MID2538 / MID3626	0,09286	MID3072 / MID360	0,48974	MID1636 / MID1603	0,08895
MID1644 / MID3626	0,25513	MID772 / MID360	0,45259	MID51 / MID1603	0,03910*
MID3854 / MID3626	0,00000**	MID2313 / MID360	0,37341	MID2431 / MID1603	0,01760*
MID2275 / MID3626	0,03226*	MID397 / MID360	0,81232	MID2264 / MID1603	1,00000
MID94 / MID3626	0,64223	MID1636 / MID360	0,16031	MID2256 / MID1603	0,61193
MID3072 / MID3626	0,06158	MID51 / MID360	0,47116	MID128 / MID1603	0,45161
MID772 / MID3626	0,87390	MID2431 / MID360	0,65591	MID15 / MID1603	0,42913
MID2313 / MID3626	0,78690	MID2264 / MID360	0,18182	MID2241 / MID1603	0,08895
MID397 / MID3626	0,09677	MID2256 / MID360	0,20626	MID419 / MID1603	0,04497*
MID1636 / MID3626	0,13587	MID128 / MID360	0,91691	MID943 / MID1603	0,99120
MID51 / MID3626	0,60508	MID15 / MID360	0,25220	MID159 / MID1603	0,92180
MID2431 / MID3626	0,78006	MID2241 / MID360	0,21799	MID2005 / MID1603	0,14956

Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p	Pares de marcadores	Valor de p
MID250 / MID1603	0,95992	MID593 / MID2719	0,58553	MID2256 / MID2719	0,52590
MID1802 / MID1603	1,00000	MID798 / MID2719	0,14565	MID128 / MID2719	0,36852
MID1607 / MID1603	0,65787	MID1193 / MID2719	0,02542*	MID15 / MID2719	0,32747
MID1734 / MID1603	0,11632	MID1871 / MID2719	0,99707	MID2241 / MID2719	0,70968
MID406 / MID1603	0,81134	MID17 / MID2719	0,31281	MID419 / MID2719	0,73900
MID1386 / MID1603	0,43500	MID2538 / MID2719	0,55034	MID943 / MID2719	0,04399*
MID1726 / MID1603	0,64321	MID1644 / MID2719	0,82796	MID159 / MID2719	0,33431
MID3626 / MID1603	0,13001	MID3854 / MID2719	0,66764	MID2005 / MID2719	0,35582
MID360 / MID1603	0,27370	MID2275 / MID2719	0,53275	MID250 / MID2719	0,53079
MID1470 / MID2719	0,28152	MID94 / MID2719	0,65103	MID1802 / MID2719	1,00000
MID777 / MID2719	0,77126	MID3072 / MID2719	0,61779	MID1607 / MID2719	0,61975
MID196 / MID2719	0,06452	MID772 / MID2719	0,79765	MID1734 / MID2719	0,14565
MID881 / MID2719	0,21114	MID2313 / MID2719	0,63734	MID406 / MID2719	0,01271*
MID3122 / MID2719	1,00000	MID397 / MID2719	0,99316	MID1386 / MID2719	0,38514
MID548 / MID2719	0,84066	MID1636 / MID2719	0,81232	MID1726 / MID2719	0,93842
MID659 / MID2719	0,47214	MID51 / MID2719	0,03617*	MID3626 / MID2719	0,87683
MID2011 / MID2719	0,24633	MID2431 / MID2719	0,02444*	MID360 / MID2719	0,60117
MID2929 / MID2719	0,97067	MID2264 / MID2719	0,77615	MID1603 / MID2719	0,99902

* Pares de marcadores com $p < 0,05$; ** Pares de marcadores em *Linkage Disequilibrium* após correção de Bonferroni.